

Année 1971-1972

Série E. N° _____

THESE

Présentée

A L'UNITÉ D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE
DE BIOLOGIE HUMAINE ET EXPÉRIMENTALE
DE L'UNIVERSITÉ RENÉ DESCARTES
DE PARIS

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR EN PHARMACIE

(Diplôme d'État)

par

Colette PIETTE

Titre de la thèse :

**GRANULOCYTES BASOPHILES ET EOSINOPHILES SANGUINS
DANS DIVERSES CIRCONSTANCES
PHYSIOLOGIQUES ET PATHOLOGIQUES**

Soutenue le :

1971

JURY : M. Y. RAOUL

Président

M. R. MICHEL

M. M. LECLERC

} Examinateurs

UNIVERSITÉ RENÉ DESCARTES DE PARIS

UNITÉ D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE
DE BIOLOGIE HUMAINE ET EXPÉRIMENTALE

Année 1971-1972

Série E. N° _____

THESE

Présentée

A L'UNITÉ D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE
DE BIOLOGIE HUMAINE ET EXPÉRIMENTALE
DE L'UNIVERSITÉ RENÉ DESCARTES
DE PARIS

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR EN PHARMACIE

(Diplôme d'État)

par

Colette PIETTE

Titre de la thèse :

**GRANULOCYTES BASOPHILES ET EOSINOPHILES SANGUINS
DANS DIVERSES CIRCONSTANCES
PHYSIOLOGIQUES ET PATHOLOGIQUES**

Soutenue le :

JURY : M. Y. RAOUL

Président

M. R. MICHEL

M. M. LECLERC

} Examinateurs



A Monsieur le Professeur Y. RAOUL
Chevalier de la Légion d'Honneur

qui s'est toujours intéressé avec bienveillance
à nos recherches et nous a fait l'honneur
de présider cette thèse.

En hommage de notre respectueuse gratitude.

A Monsieur le Professeur R. MICHEL

En témoignage de notre déférence et de notre
profonde reconnaissance pour avoir accepté
d'examiner ce travail.

A Monsieur le Professeur M. LECLERC

qui a bien voulu faire partie du jury de cette thèse, résultat de recherches dont il a connu le déroulement, nous présentons nos remerciements les plus sincères.

A la mémoire de ma mère.

A mon père.

A mon mari.

A mon fils.

A tous ceux qui me sont chers.

Aux collaboratrices et collaborateurs du service qui, en acceptant l'astreinte de prélèvements sanguins quotidiens pendant plusieurs semaines, nous ont permis de préciser certains faits indispensables à l'accomplissement de ce travail.

INTRODUCTION

Dans le dernier chapitre d'une thèse sur les granulocytes basophiles (133), nous avons décrit une méthode de numération directe de ces cellules dans le sang humain, laissant espérer que sa mise au point pourrait faciliter des recherches ultérieures.

Ces études, qui ont effectivement été poursuivies depuis 1964, font l'objet de ce second travail, qui comporte deux parties.

La première (Technologie) expose les techniques que nous avons utilisées pour la conduite de nos recherches. Certaines, empruntées à divers auteurs, n'ont pas exigé d'autre travail que la vérification de leur validité; par contre, nous avons dû mettre au point des méthodes d'analyse originales : dosages de l'iode protéique sanguin (Protein Bound Iodine ou P.B.I.) et de l'iode hormonal pour les explorations thyroïdiennes que nous désirions entreprendre.

La deuxième partie (Biologie) comporte plusieurs rubriques. Nous nous sommes en premier lieu attachée aux aspects hématologiques des dysfonctionnements thyroïdiens, ceci pour plusieurs raisons. L'étude bibliographique des travaux antérieurs révélant en effet l'existence de résultats parfois contradictoires, dus à des techniques de précision imparfaite ou à des enquêtes qui ne portaient que sur un nombre insuffisant d'individus, il convenait de reprendre des recherches dans des conditions telles qu'elles puissent permettre des conclusions indiscutables. Par ailleurs, on sait que les troubles de l'hydratation cutanée observés dans les grandes hypothyroïdies (myxœdème) (157) et certaines hyperthyroïdies (myxœdème localisé pré tibial) (173) sont en relation avec les mucopolysaccharides (69), dans le métabolisme desquels interviennent les mastocytes. Ceux-ci, en effet, contribuent, d'après COTTENOT (57), au maintien de la substance fondamentale normale et contrôlent la charge hydrique du collagène. La teneur en mucopolysaccharides des tissus étant soumise à des influences hormonales, thyroïdiennes ou hypophysaires, comme l'attestent de nombreux travaux (8, 9, 23, 81, 109, 123, 157, 171, 175), on peut penser que les mastocytes jouent, dans ce domaine, le rôle d'un intermédiaire. Or, on sait que mastocytes et granulocytes basophiles sont des cellules étroitement apparentées sur le plan physiologique : leurs granulations cytoplasmiques renfermant des métabolites identiques (héparine, histamine, etc.), susceptibles d'être excrétés, on a pensé que ces deux cellules faisaient partie de deux systèmes, l'un fixe (mastocytes), l'autre circulant (granulocytes basophiles), ayant des fonctions physiologiques complémentaires (30). Ces faits soulignent que les éventuelles relations entre thyroïde et basophiles méritaient d'être précisées.

Par ailleurs, les granulocytes éosinophiles ont, avec leurs homologues basophiles, quelques points communs, ne serait-ce que leur haute teneur en histamine, mais les rapports entre ces deux éléments sanguins restent finalement obscurs. Les travaux ayant trait aux modifications hématologiques en relation avec le fonctionnement thyroïdien n'ayant jamais envisagé une étude simultanée des basophiles et éosinophiles, nous avons pensé qu'il convenait, là encore, d'entreprendre de nouvelles recherches.

Quatre chapitres de ce travail sont donc consacrés aux rapports entre la thyroïde, d'une part, les granulocytes basophiles et éosinophiles d'autre part. Ils comportent des études sur l'Homme et l'animal (Lapin).

Nous avons, dans les chapitres suivants, examiné les modifications leucocytaires au cours de diverses agressions. Des recherches ont été entreprises à propos d'efforts physiques brefs et intenses chez l'Homme normal, dans le but de connaître si la composition des réserves leucocytaires en margination vasculaire était identique à celle de la masse circulante et si la mobilisation, au cours de l'effort musculaire, des basophiles, éosinophiles et neutrophiles, c'est-à-dire des trois variétés de granulocytes, s'effectuait de façon semblable.

Le dernier domaine que nous avons abordé est celui des modifications leucocytaires au cours des hémorragies chez l'Homme et l'animal, les travaux déjà publiés n'ayant envisagé que les réactions postérieures aux soustractions sanguines. Les résultats enregistrés chez des hommes donneurs de sang volontaires, c'est-à-dire soumis à une hémorragie de volume modéré, nous ont conduite à une expérimentation animale, permettant des spoliations sanguines beaucoup plus importantes.

Les valeurs chiffrées obtenues au cours de l'ensemble de ce travail ont été analysées par des méthodes statistiques classiques. La première, celle de STUDENT-FISHER, consiste à comparer les moyennes des résultats de deux expériences en calculant la différence significative "t" et en recherchant son degré de probabilité "P". Rappelons que le seuil de P en expérimentation biologique est habituellement choisi à 0,05. Ce risque de 5 pour 100 signifie que dans le cas où les moyennes réelles du paramètre considéré sont exactement les mêmes dans les deux expériences, il existe 5 chances sur 100 d'obtenir, du fait du hasard de l'échantillonnage, des moyennes observées significativement différentes. En fait, à ce seuil, les résultats ne peuvent pas tous être considérés comme prouvés de manière absolue. Par contre, ceux qui sont obtenus avec une probabilité P inférieure à 0,01, voire à 0,001, peuvent être raisonnablement admis sans arrière-pensée.

Nous avons également eu recours à des calculs de coefficients de corrélation, qui permettent d'établir s'il existe ou non une relation entre deux variables sur un même sujet. Le coefficient "r" peut varier entre + 1 et - 1. Les valeurs extrêmes de "r" indiquent une très forte liaison, positive ou négative, mais si "r" est voisin de 0, les deux variables ne sont pas liées. Naturellement, dans un tel calcul de corrélation, on recherche la probabilité P correspondant à la valeur trouvée pour "r" et au nombre de sujets observés. La signification est d'autant plus nette que le nombre des sujets est plus élevé, ceci pour une même valeur de "r". En effet, lorsque le nombre des sujets augmente, cet indice se rapproche peu à peu de sa valeur réelle, laissant ainsi une part moindre au hasard de l'échantillonnage.

C'est dans cet esprit que nous avons entrepris le travail dont nous allons exposer les résultats dans les chapitres qui suivent.

*
* * *

PREMIERE PARTIE

TECHNOLOGIE

CHAPITRE I

TECHNIQUES HEMATOLOGIQUES UTILISEES

1.- NUMÉRATION DES LEUCOCYTES TOTAUX ET FORMULE LEUCOCYTAIRE

Les décomptes des leucocytes totaux, que ce soit chez l'Homme ou l'animal, ont été effectués au microscope sur la totalité d'un hématimètre de MALASSEZ, soit 1 microlitre, le sang étant dilué au dixième. Les formules leucocytaires ont été pratiquées sur des frottis sanguins colorés par la méthode classique de MAY-GRÜNWALD-GIEMSA en s'entourant des précautions habituelles (balayage de surfaces égales sur les bords et au milieu des frottis, décompte sur un minimum de 250 éléments).

2.- NUMÉRATION DIRECTE DES GRANULOCYTES BASOPHILES DANS LE SANG HUMAIN

A.- RAISONS DE L'ÉTUDE

Les recherches techniques entreprises, dont les résultats ont été publiés voici une dizaine d'années (133), ont été motivées par le fait que les méthodes existant à cette époque étaient loin de donner entière satisfaction. A l'exclusion de celle d'INAGAKI (98), elles dérivait, mais sans amélioration capitale (30, 121, 149), de celle qu'avaient préconisée MOORE et JAMES (125) en 1953, longue et incertaine dans ses résultats.

Il faut dire que si l'on désire obtenir une précision acceptable, cette numération n'a rien de comparable du point de vue de sa complexité avec celle des leucocytes et des hématies et, en 1971, les essais de mise au point d'appareils entièrement automatiques pour l'établissement des formules leucocytaires se heurtent encore au problème des basophiles : la réaction cytochimique de discrimination a recours au rouge neutre, qui réagit plus ou moins spécifiquement avec l'héparine contenue dans les granulations cytoplasmiques, mais le contrôle des résultats obtenus n'a pas été abordé par les auteurs car il nécessite des formules sanguines portant sur 10.000 leucocytes (150).

L'expérience que nous avons acquise au cours d'un travail antérieur sur les granulocytes basophiles (133) nous permettait d'éviter certaines erreurs dans la façon de traiter ces cellules et d'espérer la mise au point d'une technique satisfaisante. Avant d'en décrire les modalités, nous

préciserons les raisons des difficultés de la numération directe des granulocytes basophiles dans le sang.

a.- Faible concentration sanguine des cellules

Le nombre des granulocytes basophiles dans le sang est faible. Des études faites par divers auteurs et de notre expérience personnelle, il ressort un chiffre de l'ordre de 30 à 40 par microlitre, mais les variations individuelles sont considérables. Chez 60 pour 100 des sujets normaux, la marge est de 20 à 60, mais les extrêmes connues montent jusqu'à 140 et descendent jusqu'à 3.

Une dilution du sang au dixième conduit donc à introduire dans un hématimètre un liquide en fait très pauvre en éléments à décompter. La plupart des auteurs utilisent des hématimètres de FUCHS-ROSENTHAL, dont le volume total est de 3,2 microlitres. Dans ces conditions expérimentales et pour des limites de 20 à 60 basophiles par microlitre, on dénombrera donc de 6 à 19 cellules. Il est à noter que si certains auteurs effectuent, comme il se doit, une numération sur plusieurs hématimètres, ce n'est toutefois pas le cas de tous. Or, l'expérience montre que les chiffres qui sont trouvés d'un hématimètre à l'autre sont souvent fort différents malgré le soin qu'on peut apporter à rendre le plus homogène possible le produit de la dilution sanguine. Mais, la véritable difficulté réside dans le temps nécessaire à l'exploration de 3 à 10 cellules de FUCHS-ROSENTHAL pour le dénombrement des basophiles. Un gain appréciable peut être réalisé en utilisant des cellules pour numération ayant une grande profondeur (0,5 mm par exemple, comme celle de NAGEOTTE), mais l'épaisseur du liquide complique le décompte des basophiles : il faudrait que ceux-ci soient colorés d'une façon parfaite ou du moins telle qu'elle permettrait de les distinguer sûrement et instantanément des autres leucocytes, ce qui n'est malheureusement pas le cas pour tous. Il existe en effet, comme nous le verrons plus loin, un certain nombre de cellules douteuses, dont l'identification nécessiterait l'emploi d'un objectif microscopique plus fort (un changement d'oculaire n'améliore rien) mais on ne peut y avoir recours étant donné la distance qui sépare les leucocytes sédimentés de la lentille frontale.

b.- La coloration des basophiles

Dans les techniques classiques, elle est toujours réalisée par la mise en évidence, au niveau des granulations cytoplasmiques, de substances chromotropes par un colorant métachromatique, le bleu de toluidine, qui donne une teinte rouge aux granulations spécifiques, mais il faut souligner qu'il existe des différences considérables suivant la provenance du colorant utilisé. C'est pourquoi nous préférons employer les azurs de méthylène, Azur I et Azur II, ce dernier comportant des petites quantités de bleu de méthylène, qui renforce l'activité métachromatique. Quoi qu'il en soit, la coloration s'effectue dans un milieu aqueux ou alcoolique faible, à des pH variables.

Or, la teneur en eau a pour premier effet défavorable de conduire à une imprégnation toujours intense des noyaux des leucocytes, ce qui contrarie l'identification instantanée des basophiles.

La critique serait mineure si les acides nucléiques n'étaient pas doués, dans les conditions expérimentales préconisées par les diverses techniques, d'une certaine activité métachromatique : la teinte obtenue n'est pas bleue mais violet-rouge, ce qui s'avère extrêmement fâcheux. Quant à la substance chromotrope des granulations cytoplasmiques, son hydrosolubilité se traduit par une

diffusion. Les effets obtenus diffèrent suivant les cellules, ou plus exactement suivant le nombre plus ou moins important de granulations et le degré de condensation de substance chromotrope, ce qu'objective parfaitement l'examen des frottis colorés par les méthodes panoptiques habituelles. On peut penser que, lors de la dilution sanguine, le passage de l'eau dans le cytoplasme précède de peu celui du colorant, qui donne avec la substance chromotrope un composé peu soluble coloré métachromatiquement. Celui-ci reste dans l'immense majorité des cas intracellulaire : dans certaines cellules, des granulations très condensées à contenu moins hydrosoluble sont même fixées sensiblement dans leur état primitif, ce qui est excellent car le basophile est rendu immédiatement identifiable, mais, à l'inverse, des granulations à structure lâche risquent fort de perdre leur contenu. Chacun sait que dans une même cellule existent des granulations de structure différente : l'examen en préparations minces permettant l'emploi d'un objectif à immersion montre que, parmi les cellules colorées en milieu liquide, rares sont celles qui présentent des granulations individualisées et fréquentes celles où prédomine la diffusion. Il est difficile de dire si celle-ci permet une sortie hors de la cellule car cette dernière est entourée d'un liquide bleu rendant l'appréciation difficile. Cependant, une comparaison de basophiles d'aspect « moyennement coloré » sur frottis, d'une part, et en milieu liquide, d'autre part, montre qu'une diffusion suivie d'une insolubilisation intracellulaire du contenu total des granulations devrait conduire à une teinte rose ou rouge pâle plus accentuée que celle qui est observée.

On se trouve donc ainsi devant des leucocytes présentant à des degrés divers, mais sans exception, un noyau à reflet violet-rouge, les basophiles se reconnaissant pour la plupart à la teinte rose de leur cytoplasme, rarement par des granulations rouges. Il ne s'agit certes pas là de conditions idéales. On pourrait penser qu'elles sont susceptibles d'être améliorées car, contre toute attente, les milieux de dilution ne sont pas choisis acides, comme le préconise l'histologie pour les réactions métachromatiques, mais neutres ou légèrement alcalins. Il faut d'ailleurs noter à ce propos que le recours à des solutions tampons de phosphates n'est acceptable que si ces dernières sont diluées car les sels alcalins ont un effet inhibiteur sur la réaction métachromatique. Or, si l'on essaie d'abaisser le pH à 3 ou 4 par un acide dilué, on s'aperçoit que la métachromasie des noyaux ne subit aucun changement, ou même s'accroît, et que l'hémolyse, obtenue habituellement par de la saponine, est plutôt contrariée. Par contre, cette acidification favorise la diffusion mais on peut limiter cette dernière par un sel de plomb, en milieu uniquement aqueux, sans saponine (98).

B.- TENTATIVE D'AMÉLIORATION SOUS L'ANGLE CYTOLOGIQUE

Nous avons tenté d'améliorer les techniques déjà existantes, en particulier d'atténuer la réaction métachromatique des noyaux, mais en vain. Il faut, pour arriver à ce résultat, effectuer la coloration dans un milieu pauvre en eau (donc de titre alcoolique plus élevé qu'habituellement), mais on est rapidement limité par l'insolubilisation des protéines plasmatiques et de l'hémoglobine provenant de la lyse des hématies. Les exigences sont donc contradictoires.

Nous avons alors repris les glycols que nous avons expérimentés auparavant avec le sang de Lapin, l'hémolyse étant obtenue par l'acide formique (133). Les contrôles, effectués par dénombrement sur frottis de plus de 35.000 leucocytes, avaient en effet montré une concordance très acceptable. Mais, une série d'essais sur le sang humain devaient nous convaincre que la transposition n'était pas possible. L'électronégativité moins forte des composés chromotropes des basophiles humains se traduisait, pour certaines cellules, par une simple réfringence, sans coloration, conduisant à des erreurs par défaut.

Nous avons donc supprimé l'acide formique et expérimenté divers agents hémolytiques, pour finalement adopter le digitonoside. Un ensemble d'essais systématiques devaient montrer par ailleurs que l'Azur II donnait des meilleurs résultats que le bleu de toluidine et que l'éthylène-glycol s'avérait préférable au propylène-glycol pour la conservation du réactif.

Celui-ci, anhydre, peut être mélangé en parties égales avec le sang, sans qu'il y ait précipitation; les hématies, rendues transparentes, n'empêchent pas de voir les basophiles, dont les granulations, colorées en rouge vif, sont reconnaissables au premier coup d'œil au milieu des autres leucocytes, dont le noyau n'est que faiblement teinté en bleu, sans aucune métachromasie. Il n'existe aucune cellule douteuse et, du point de vue cytologique, le résultat peut être considéré comme excellent. Mais son application pratique doit tenir compte de ce que, dans ce milieu visqueux et de densité élevée, la sédimentation des leucocytes est nulle. Nous avons donc utilisé des hématimètres spéciaux de 40 microns de profondeur et de grande surface et expérimenté cette technique de nombreuses fois, non pas pour l'exactitude qu'on pouvait en espérer, car même les basophiles contenant peu de granulations sont immédiatement reconnaissables, mais pour comparer le temps qu'elle exigeait pour une numération avec celui des techniques classiques. Le bénéfice semblait a priori nul puisque ce qui était gagné en taux de dilution ($\frac{1}{2}$ au lieu de $\frac{1}{10}$) était perdu par le manque de profondeur de l'hématimètre (40 microns au lieu de 200). En fait, l'identification instantanée des basophiles permettait tout de même de réaliser un gain de temps de l'ordre de 50 pour 100. Ce résultat pouvait paraître suffisant mais il n'en subsistait pas moins que la numération était encore trop longue.

C.- RECHERCHE D'UNE MÉTHODE PLUS RAPIDE

L'objectif que nous avons poursuivi a été celui d'une dilution finale du sang au dixième, à examiner sans erreur cytologique possible dans un hématimètre de grande profondeur, tel que la cellule de NAGEOTTE (500 microns de profondeur, 40 rectangles de 1,25 microlitre, soit 50 microlitres de dilution, correspondant à 5 microlitres de sang).

Nous avons dit plus haut qu'il fallait attendre peu des dilutions directes avec un liquide riche en eau si l'on désirait des cellules convenablement colorées. On pouvait, par contre, espérer que le mélange primaire de réactif et de sang pourrait subir sans modification cytologique sensible une dilution ultérieure permettant une décantation. L'expérience a montré qu'il n'en était rien : les milieux aqueux, hydro-alcooliques, les mélanges d'eau et de glycol calculés en fonction du titre du mélange primaire, les changements de pH au moyen d'acides dilués ou de solutions tamponnées réalisant les gammes les plus variées n'ont conduit qu'à faire renaître des difficultés anciennes ou en créer de nouvelles. C'est encore la coloration et l'éventuelle métachromasie des noyaux qui constituent le principal obstacle.

Nous avons cependant pu le lever en considérant la nature des substances chromotropes : celles qui possèdent un radical ionogène carboxyle ne gênant pas, la difficulté consiste à éliminer les réactions des acides nucléiques à radical ionogène phosphate (qui présentent une réaction métachromatique) tout en conservant celle des polysaccharides des basophiles, à radical ionogène sulfate. Diverses investigations nous ont conduite à découvrir que si la réaction métachromatique due aux sulfo-polysaccharides était, comme les autres, annihilée par certains sels, elle était susceptible, une fois réalisée, de résister seule à ces derniers. Le choix des sels ne devait pas susciter de difficulté : en dehors du chlorure de sodium, nous avons retenu le chlorure d'ammonium, dont la réaction légèrement acide apportait un appoint à l'inhibition de la métachromasie des noyaux, sans nuire pour autant à celle des granulations des basophiles.

Il restait comme dernier point à préciser celui des conditions optimales de la réaction métachromatique primitive. L'expérience a montré qu'elles n'étaient pas en fait réalisées avec un réactif complètement anhydre mais quand celui-ci renfermait environ 10 pour 100 d'eau. Nous avons, par la suite, ajouté de petites quantités d'un agent tensio-actif, le tween 80, qui nous est apparu comme favorisant la coloration tout en facilitant la sédimentation des cellules.

D.- TECHNIQUE

a.- Réactifs

1.- Azur II de méthylène	0,29 g
Digitonoside	1,10 g
Tween 80	1,00 ml
Eau distillée.	9,00 ml
Ethylène - glycol, q. s. p.	100 ml

Le colorant et le digitonoside sont dissous à chaud dans 60 à 70 ml d'éthylène - glycol. Le tween 80 étant un produit visqueux difficile à mesurer avec une pipette, il est préférable de préparer à part un stock d'une dilution aqueuse à 10 pour 100 (vol./vol.), dont on ajoutera 10 ml à la solution précédente. Il suffit alors de compléter à 100 ml avec de l'éthylène - glycol.

Ce réactif est de bonne conservation.

2.- Chlorure de sodium.	1,5 g
Chlorure d'ammonium.	1,5 g
Eau distillée, q. s. p.	100 ml

b.- Mode opératoire

Dans un petit tube à hémolyse contenant une bille de verre de 2 à 3 mm de diamètre, introduire 0,040 ml de réactif 1 avec une pipette de précision. Prélever un volume égal de sang avec une pipette à écoulement total (type GOWERS, pour le dosage de l'hémoglobine, mais de volume double). Rejeter le sang dans le réactif. Agiter le tube quelques secondes pour homogénéiser, aspirer et renvoyer trois ou quatre fois une partie du mélange avec la micropipette à sang (rinçage). Boucher le tube et le laisser au repos une dizaine de minutes. Ajouter ensuite 0,32 ml de solution 2, ce qui réalise une dilution finale du sang au dixième. Mélanger de nouveau. Rincer la pipette ayant servi au prélèvement de sang par quelques aspirations et rejets d'une partie du contenu du tube. Mélanger de nouveau. Remplir la cellule de NAGEOTTE. Laisser sédimenter les leucocytes au moins 30 minutes en chambre humide. Effectuer le décompte au microscope, en lumière blanche filtrée par un verre dépoli (combinaison optique optimale : objectif x 37,5 — oculaire x 5,5).

Les leucocytes autres que les basophiles sont colorés en bleu et ceux-ci en rouge vif, les granulations étant facilement visibles.

La cellule de NAGEOTTE comportant 40 rectangles de 1,25 microlitre, sa capacité est de 50 microlitres, qui correspondent à 5 microlitres de sang. Pour un sang renfermant 40 basophiles par microlitre, le décompte sur la cellule entière montrerait 200 basophiles, soit 5 en moyenne par rectangle. Il faut 1 minute à 1 minute 30 pour examiner un rectangle.

E.- VALIDITÉ DE LA MÉTHODE

L'examen microscopique des dilutions sanguines montrant que les seuls basophiles sont colorés métachromatiquement, les autres cellules étant par ailleurs identifiables, nous étions donc assurée du caractère quantitatif des numérations. Nous avons cependant comparé les résultats obtenus avec ceux d'une des techniques classiques, en l'espèce celle d'INAGAKI (98); le matériel avait été au préalable étalonné, en particulier les cellules de NAGEOTTE, par des numérations portant sur plusieurs milliers de leucocytes.

La méthode d'INAGAKI laissant subsister des doutes sur la nature de certains granulocytes basophiles, nous devons tenir compte de ce fait pour apprécier la validité de la technique proposée.

Nous avons donc, sur une série de 12 individus, effectué des décomptes dans une cellule de NAGEOTTE entière, conformément au protocole suivant :

A : par la technique proposée.

B : par la méthode d'INAGAKI en ne comptant que les cellules identifiées avec certitude

C : par la méthode d'INAGAKI en incorporant les cellules douteuses.

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau N° 1.

TABLEAU N° 1

A, B et C : indications dans le texte

Sangs N°	Technique proposée A	Coloration INAGAKI B	Différence A – B (en %)	Coloration INAGAKI C	Différence C – A (en %)
1	175	151	– 14	184	+ 5
2	223	185	– 17	220	– 1,5
3	180	151	– 16	167	– 7
4	241	223	– 7,5	244	+ 1
5	214	184	– 14	229	+ 7
6	229	165	– 28	236	+ 3
7	148	143	– 3,5	148	0
8	212	190	– 10,5	199	– 6
9	190	161	– 15	170	– 10,5
10	173	161	– 7	176	+ 1,5
11	226	199	– 12	235	+ 4
12	181	170	– 6	188	+ 4

Il ressort de l'examen de ces résultats que la technique proposée donne toujours une différence par excès comparativement à celle d'INAGAKI effectuée selon le type B. Par contre, la concordance est bonne si l'on opère selon le type C, c'est-à-dire en incorporant les granulocytes douteux à cytoplasme discrètement rosé.

F.- APPRÉCIATION DES ERREURS ET CONDUITE A TENIR

Nous avons, dans le mémoire original, examiné les incidences de l'inégale répartition des basophiles dans le quadrillage de la cellule de NAGEOTTE sur l'erreur inhérente au résultat obtenu. Ces expériences ont été reprises ultérieurement : elles ont montré qu'il était nécessaire d'effectuer des décomptes sur la totalité de l'hématimètre si l'on voulait obtenir un résultat d'une précision convenable (5 pour 100) dans des limites de temps acceptables. C'est ce protocole opératoire qui a été adopté au cours de ce travail. Disons pour préciser que l'entraînement aux numérations conduit à une réduction du temps nécessaire pour les accomplir mais qu'il ne faut pas moins de 30 minutes pour un examen.

Nous avons souligné au début de ce chapitre que le contrôle des résultats obtenus avec les appareils de numération automatiques n'avait pas été entrepris car il nécessitait des formules leucocytaires portant sur 10.000 leucocytes, soit une quinzaine d'heures de travail. Encore faut-il ajouter que pour un sang renfermant 0,4 pour 100 de basophiles par rapport aux leucocytes totaux, le dénombrement ne porterait que sur 40 éléments. Avec le même sang et en utilisant la technique que nous proposons, un observateur entraîné décompte, en 30 minutes, 200 granulocytes basophiles, soit l'équivalent de ce qu'il trouverait en s'astreignant à une formule leucocytaire portant sur 50.000 leucocytes. En dehors du gain de temps, qui est évident, les risques d'erreur sont considérablement diminués car nous savons par expérience personnelle (133) que l'exploration microscopique complète de frottis sanguins, si on la désire parfaite, nécessite des précautions considérables.

G.- RÉSULTATS NORMAUX

Nous avons eu la possibilité, depuis plus de dix ans, d'examiner le sang d'adultes (hommes et femmes) normaux, c'est-à-dire une population excluant tous les individus qui, du fait qu'ils étaient adressés au laboratoire pour des examens biologiques, ne pouvaient être considérés comme normaux.

Les résultats obtenus figurent dans le tableau N° 2.

T A B L E A U N ° 2

**NOMBRE DE GRANULOCYTES BASOPHILES PAR MICROLITRE DE SANG
CHEZ DES SUJETS ADULTES NORMAUX**

Individus	Nombre de cas	Granulocytes basophiles par microlitre de sang	Déviation standard
Hommes	124	37,71	17,61
Femmes non ménopausées	62	35,41	19,46
Femmes ménopausées	105	33,00	19,99

Les valeurs sont très voisines les unes des autres, mais avec une déviation standard élevée. Le calcul de la différence significative " t " et de la probabilité " P " entre les trois catégories prises deux à deux donne les résultats suivants :

	P
Hommes — Femmes non ménopausées	> 0,90
Hommes — Femmes ménopausées	> 0,20
Femmes ménopausées — Femmes non ménopausées	> 0,40

**3.- NUMÉRATION DIRECTE DES GRANULOCYTES BASOPHILES SANGUINS
CHEZ LE LAPIN**

Les granulocytes basophiles de l'Homme ne sont pas identiques à ceux du Lapin (133) et la méthode de numération adoptée pour le premier n'est pas applicable au second.

Nous avons utilisé pour nos recherches la technique de PIETTE et LAJOINIE (138), adaptation de celle qui a été mise au point pour le sang humain. Elle s'est en effet avérée plus pratique et plus précise que celle que nous avons préconisée en 1959 (139).

Réactifs

A.- Azur I de méthylène	0,15 g
Saponine (Merck)	1,00 g
Ethylène - glycol, q. s. p.	100 ml

La dissolution est faite par chauffage modéré.

B.- Chlorure de sodium	3,00 g
Chlorure d'ammonium	3,00 g
Nitrate d'uranyle crist.	0,075 g
Eau distillée, q. s. p.	100 ml

Les sels sont dissous à température ordinaire ou en tiédissant légèrement.

Les deux réactifs se conservent parfaitement au réfrigérateur.

Mode opératoire

Il est strictement identique à celui qui a été décrit pour le sang humain.

Résultats

La moyenne des résultats enregistrés sur 127 animaux est de 294, avec une déviation standard (écart-type) de 160.

**4.- NUMÉRATION DIRECTE DES GRANULOCYTES ÉOSINOPHILES
DANS LE SANG HUMAIN**

Nous avons eu recours à la technique de PIETTE (136) au Noir Chlorazol E, qui colore spécifiquement les éosinophiles en noir sans affecter les autres leucocytes, ce qui facilite beaucoup les décomptes.

Réactif

Noir Chlorazol E	65	mg
Carbonate de sodium anhydre	65	mg
Saponine (Merck).....	65	mg
Chlorure de sodium	140	mg
Tween 80.....	1,3	ml
Alcool isopropylique	13	ml
Propylène - glycol	13	ml
Eau distillée, q. s. p.	100	ml

Dissoudre le colorant, la saponine, le tween et le chlorure de sodium dans 50 à 60 ml d'eau, en chauffant légèrement. Ajouter, en mélangeant après chaque addition, le propylène - glycol et l'alcool isopropylique, puis le carbonate de sodium dissous à part dans une dizaine de ml d'eau. Compléter à 100 ml et filtrer.

Cette solution se conserve plusieurs mois, même à température ordinaire.

Mode opératoire

Diluer le sang au dixième avec le réactif ci-dessus en utilisant un mélangeur de POTAIN. Remplir la cellule de NAGEOTTE et effectuer la numération dans les conditions habituelles.

Résultats normaux

Les valeurs normales trouvées par cette méthode sont en accord avec les données classiques, généralement comprises entre 50 et 300 par microlitre de sang.

5.- NUMÉRATION DIRECTE DES GRANULOCYTES ÉOSINOPHILES SANGUINS CHEZ LE LAPIN

Les granulocytes neutrophiles du Lapin sont en réalité amphophiles : les granulations cytoplasmiques prennent en effet l'éosine assez fortement, d'où leur nom de pseudo-éosinophiles. Le liquide de dilution employé pour les numérations dans le sang humain est inutilisable mais, modifié par PIETTE et CHICHE (137), il arrive à colorer spécifiquement les éosinophiles vrais et donne ainsi avec le sang de Lapin des résultats satisfaisants.

Réactif

Noir Chlorazol E	0,13	g
Digitonosite	0,20	g
Acétate d'ammonium	1,00	g
Carbonate de sodium anhydre	0,10	g
Dilution aqueuse au $\frac{1}{10}$ (vol./vol.) de tween 20 ..	5,00	ml
Eau distillée, q. s. p.....	100	ml

Dissoudre par chauffage modéré.

La conservation est excellente, même à température ordinaire.

Mode opératoire

La dilution et le décompte sont effectués dans les conditions préconisées pour le sang humain.

Résultats

La moyenne des résultats enregistrés sur 110 animaux est de 126, mais avec une déviation standard (écart-type) très importante : 141.

6.- NUMÉRATION DES RÉTICULOCYTES

L'évaluation du nombre des réticulocytes sanguins par décompte sur frottis après coloration post-vitale s'avère être fastidieuse et surtout peu précise en cas de réticulocytoses faibles ou modérées : c'est pourquoi nous avons choisi une méthode de numération directe en cellule hématimétrique (135).

Réactifs

A.- Azur II de méthylène.	0,10 g
Chlorure de sodium	0,45 g
Chlorure d'ammonium	0,20 g
Citrate trisodique cristallisé	1,00 g
Eau distillée, q. s. p.	100 ml

La solution s'obtient en chauffant légèrement.

B.- Chlorure d'ammonium	0,20 g
Safranine	0,0025 g
Eau distillée, q. s. p.	100 ml

Mode opératoire

Mesurer dans un tube à hémolyse 80 microlitres de réactif A. Prélever 40 microlitres de sang frais et les rejeter dans le tube à hémolyse. Aspirer et refouler à plusieurs reprises pour rincer la pipette ayant servi au prélèvement du sang et réaliser un mélange homogène des deux liquides. Agiter le tube quelques instants, le boucher et l'abandonner 10 minutes. Après ce délai, homogénéiser à nouveau le contenu du tube, dont on dilue une partie aliquote au dixième dans un mélangeur de POTAIN en utilisant le réactif B. Après agitation suffisante, remplir une cellule hématimétrique spéciale de 40 microns de profondeur et laisser sédimenter 30 minutes en chambre humide.

Effectuer le décompte sur 5 bandes horizontales quadrillées de 0,04 microlitre chacune, soit sur un volume total de 0,20 microlitre de dilution. Le résultat obtenu, multiplié par 150, donne le nombre de réticulocytes par microlitre de sang.

*
* *

CHAPITRE II

TECHNIQUES BIOCHIMIQUES UTILISEES

1.- DOSAGE DE L'IODE PROTÉIQUE SÉRIQUE (PROTEIN BOUND IODINE ou P.B.I.)

Parmi toutes les techniques proposées depuis la publication originale de BARKER (22), nous avons utilisé celle que nous avons préconisée en 1960 (134) et qui a été appliquée à plus de 3.000 déterminations.

A.- PRINCIPE

Précipitation des protéines sériques.

Minéralisation alcaline du précipité préalablement lavé.

Dosage de l'iode par appréciation de son activité catalytique à 70° sur la décoloration des sels cériques par l'anhydride arsénieux (154).

Interruption de la réaction par addition de brucine qui, en présence d'un excès de sels cériques, fournit une coloration rouge utilisée pour la mesure photométrique.

Précautions générales à observer

Il convient d'éviter soigneusement de souiller les prélèvements et réactifs par des apports extérieurs d'iode ou d'ions susceptibles d'intervenir dans la réaction catalytique, tant pour l'accélérer que pour la ralentir.

B.- RÉACTIFS

- 1.- Eau déminéralisée
- 2.- Solution de sulfate de zinc

SO ₄ Zn, 7 H ₂ O (R.P.)		10 g
Eau déminéralisée, q. s. p.		100 ml
- 3.- Soude 0,5 N

Pastilles de soude (R.P.)		20 g
Eau déminéralisée, q. s. p.		1.000 ml

Ces deux dernières solutions doivent être équilibrées de telle sorte que, lorsque 10 ml de la première sont dilués avec 50 à 70 ml d'eau et titrés lentement avec la seconde, il faut 10,8 à 11,2 ml de solution alcaline pour obtenir une coloration rose pâle permanente en présence de phénolphthaléine (SOMOGYI).

4.- Carbonate de sodium 4 N

Carbonate de sodium sec (R.P.)	212 g
Eau déminéralisée, q. s. p.	1.000 ml

5.- Acide sulfurique 7 N

Acide sulfurique Merck (d = 1,84)	196 ml
Eau déminéralisée, q. s. p.	1.000 ml

6.- Acide arsénieux 0,1 N dans SO_4H_2 0,01 N

Dissoudre à chaud 4,95 g d' As_2O_3 (R.P.) dans 50 ml de soude 0,5 N (réactif 3). Ajouter alors environ 300 ml d'eau déminéralisée, transvaser dans une fiole jaugée de 1.000 ml (en rinçant avec un peu d'eau), introduire 2,5 g de chlorure de sodium (R.P.), 5 ml d'acide sulfurique 7 N (réactif 5) et compléter à 1.000 ml avec de l'eau déminéralisée.

7.- Sulfate ammoniaco-cérique 0,025 N

Dans une fiole jaugée de 50 ml, mélanger :

Sulfate ammoniaco-cérique Merck	0,802 g
Eau déminéralisée	25 ml
Acide sulfurique 7 N (réactif 5)	11,5 ml

Agiter pour dissoudre. Compléter à 50 ml avec de l'eau déminéralisée.

8.- Solution de brucine

Dissoudre 2,5 g de brucine dans 1,5 ml d'acide acétique (R.P.) et compléter à 500 ml avec de l'eau déminéralisée.

9.- Solutions d'iode pour étalonnage

a) Solution-mère (1.000 microgrammes d'iode par ml)

Iodure de potassium (R.P.), desséché au préalable dans un dessiccateur	130,8 mg
Eau déminéralisée, q. s. p.	100 ml

Conserver au réfrigérateur.

b) Solution à 10 microgrammes d'iode par ml.

Préparée par dilution aqueuse au centième de la solution « a ».

c) Solution à 0,1 microgramme d'iode par ml

A préparer extemporanément, par dilution aqueuse au centième de la solution « b ».

C.- MATÉRIEL

Toute la verrerie (tubes à prélèvements, à destruction, à coloration et agitateurs) doit être nettoyée comme suit :

1.- Immersion complète dans de l'acide nitrique (R.P.) qu'on porte au voisinage de l'ébullition et qu'on laisse refroidir (on peut, à la rigueur, se contenter d'une immersion de 24 heures dans l'acide nitrique, à température ordinaire).

2.- Rinçages abondants à l'eau ordinaire chaude, puis froide, puis à plusieurs reprises avec de l'eau déminéralisée.

3.- Séchage à l'étuve, à l'abri des poussières et des contaminations.

D.- MODE OPÉRATOIRE

1.- Préparation des précipités de protéines

Utiliser 3 tubes par sérum examiné (dosage en triple). Ce sont des tubes à hémolyse en Pyrex, à fond rond, de dimensions voisines de 80 x 13 mm. Ils ne sont utilisables qu'une seule fois, le passage au four à 600° les opacifiant, d'ailleurs de façon irrégulière (taches dépolies rendant impossible l'emploi ultérieur pour le même dosage).

Dans chacun des 3 tubes, mesurer :

Sérum non hémolysé		0,5 ml
Eau déminéralisée		3,0 ml

Homogénéiser à l'aide d'un petit agitateur, puis ajouter goutte à goutte, en mélangeant, 0,5 ml de la solution de sulfate de zinc (réactif 2). Il se forme un précipité, qu'on répartit uniformément dans le liquide avec l'agitateur. Ajouter ensuite, toujours goutte à goutte et en mélangeant, 0,5 ml de soude 0,5 N (réactif 3). Assurer à nouveau la répartition homogène du précipité dans le liquide et retirer l'agitateur en éliminant soigneusement toute trace de précipité adhérent à celui-ci, par frottement avec rotation contre la paroi intérieure du tube. Centrifuger 10 minutes à 4.200 tours/minute environ. Rejeter le liquide surnageant, **qui doit être limpide.** Remettre le culot en suspension (avec le même agitateur et en prenant les mêmes précautions) dans 3 ml d'eau. Centrifuger 10 minutes à 3.000 tours/minute environ. Rejeter le liquide surnageant et laver de nouveau le précipité comme précédemment. Centrifuger une nouvelle fois (10 minutes à 3.000 tours/minute) et rejeter le liquide surnageant.

A chacun des culots, ajouter exactement 0,5 ml de solution de carbonate de sodium 4 N (réactif 4) sans mouiller la paroi intérieure du tube. Remettre le précipité en suspension homogène à l'aide de l'agitateur et rincer ensuite celui-ci avec quelques gouttes d'eau déminéralisée.

2.- Préparation des tubes de gamme

Prendre 10 tubes à hémolyse identiques aux précédents. Dans chacun d'eux, mesurer :

Solution de sulfate de zinc (réactif 2)		0,5 ml
Eau déminéralisée		3,5 ml

Mélanger avec un agitateur et ajouter goutte à goutte, en homogénéisant :

Soude 0,5 N (réactif 3)		0,5 ml
-------------------------	-------	--------

Retirer l'agitateur en récupérant toute trace de précipité qui y adhère et recommencer les opérations de centrifugation et de lavage de précipité décrites à propos de la précipitation des protéines. Reprendre finalement, comme plus haut, par 0,5 ml de solution de carbonate de sodium (réactif 4).

Ajouter alors la solution d'iode renfermant 0,1 microgramme par ml à raison de :

- 0,2 ml dans 2 tubes
- 0,4 ml dans 2 tubes
- 0,6 ml dans 2 tubes
- 0,7 ml dans 2 tubes

Assurer le mélange avec le précipité par quelques chocs latéraux.

Les deux derniers tubes servent de « blanc » des réactifs.

3.- *Minéralisation simultanée de tous les culots*

Traiter maintenant tous les tubes de la même façon. Les porter à l'étuve à 85-90° pendant une douzaine d'heures, en position assez inclinée (20 degrés environ sur l'horizontale), mais pas excessive car les sels grimpent le long des parois et risquent de sortir des tubes; veiller également à la température (danger de débordement et éventuelles projections quand celle-ci excède 90°). On obtient finalement un dépôt blanc jaunâtre. Après avoir vérifié que le contenu est **bien sec**, porter ces tubes en position voisine de la verticale (dans des pots en faïence) au four électrique et faire monter progressivement la température pour atteindre 600° en une heure. Maintenir cette température pendant 1 h 30 (le régulateur doit assurer une constance de + ou - 20 degrés), soit au total 2 h 30. Arrêter alors le four et le laisser revenir à la température ambiante (plusieurs heures). Les cendres sont d'une couleur blanc grisâtre, avec très peu de matière charbonneuse.

4.- *Colorimétrie*

Reprendre les cendres en ajoutant goutte à goutte (effervescence) :

- Acide sulfurique 7 N (réactif 5) 1 ml

Mélanger avec précaution à l'aide d'un petit agitateur puis introduire :

- Eau déminéralisée 3 ml

Agiter soigneusement le mélange et, quand le dégagement gazeux est terminé (disparition de l'odeur de SH₂ pour les tubes renfermant les protéines), centrifuger l'ensemble 5 minutes à 3.000 tours/minute environ.

Dans des tubes à essai, mesurer :

- Surnageant clair 2,0 ml
- Solution arsenicale (réactif 6) 0,5 ml

Mélanger par agitation et porter simultanément les tubes dans un bain-marie à 70° (± 0,5°). Après 10 minutes, les tubes étant toujours maintenus dans le bain-marie, ajouter à la pipette dans le premier tube :

- Sulfate ammoniaco-cérique (réactif 7) 1,0 ml

et déclencher un chronomètre; 20 secondes plus tard, opérer de même pour le second tube, puis 20 secondes après avec le troisième. Veiller, au cours de cette opération, à ne pas déposer la solution cérrique sur les parois du tube et à agiter immédiatement après l'addition du réactif.

Exactement 10 minutes après l'adjonction de la solution cérrique dans le premier tube, introduire dans le même tube :

- Solution de brucine (réactif 8) 1,0 ml

et le sortir du bain-marie en agitant. Opérer de même avec le second tube 20 secondes plus tard, puis avec le troisième, etc.

Quand la solution de brucine a été introduite dans tous les tubes, porter ceux-ci simultanément dans un bain-marie bouillant et les y maintenir 5 minutes. Les sortir ensuite et les refroidir immédiatement dans un cristalliseur rempli d'eau.

Effectuer la lecture photométrique dans l'heure qui suit, à la longueur d'onde de 540-550 nanomètres. Etablir la courbe d'étalonnage et s'y reporter en considérant que l'iode dosé dans chaque tube à essai représente la moitié de ce qui a été introduit dans le tube à hémolyse correspondant et que le dosage final porte sur 0,25 ml de sérum.

E.- RÉSULTATS

La valeur de l'iodémie protéique sérique chez l'adulte normal est comprise entre 4 et 8 microgrammes pour 100 ml de sérum.

A la naissance, les chiffres sont sensiblement plus élevés (61, 121, 132) et les dosages que nous avons effectués pour la thèse de FOURNIER (78) objectivent, en accord avec ces données, une moyenne de 9,3 microgrammes. Ce phénomène s'accroît au cours de la première semaine, puis une décroissance progressive permet de retrouver en quelques semaines (132), quelques mois (61) ou quelques années (117) les valeurs classiques de l'adulte, qui, pour la plupart des auteurs (60, 131, 163), ne subissent plus de variations physiologiques ultérieures, sauf pendant la grossesse (61, 92). KUNTZ signale toutefois une diminution du P.B.I. avec la sénescence, mais exclusivement chez l'homme (107). Enfin, aucune modification n'est enregistrée pendant le cycle menstruel (60).

F.- INTÉRÊT ET LIMITES DE LA MÉTHODE

L'évaluation de l'iodémie protéique fournit le plus souvent des renseignements utiles sur le fonctionnement thyroïdien. C'est ainsi que, dans la majorité des hypothyroïdies, les P.B.I. sont inférieurs à 4 microgrammes pour 100 ml et qu'ils sont en général compris entre 9 et 18 microgrammes dans les hyperthyroïdies.

On doit néanmoins interpréter les résultats de ce dosage avec prudence car des modifications de la capacité de transport des hormones thyroïdiennes se reflètent sur le P.B.I. Les causes de ces modifications sont multiples.

Il peut s'agir en premier lieu de variations de la concentration en protéines vectrices : c'est ainsi qu'il est possible de trouver un P.B.I. abaissé coïncidant avec un fonctionnement thyroïdien normal dans les syndromes néphrotiques (fuite rénale des protéines), au cours des traitements par les androgènes ou les corticoïdes ou dans les déficits congénitaux en une fraction protéique vectrice spécifique (180). Inversement, des P.B.I. élevés peuvent s'observer chez des sujets euthyroïdiens dans les cas d'augmentation de la concentration en protéines de transport : grossesse ou thérapeutique œstrogénique.

Par ailleurs, plusieurs substances sont connues pour avoir une affinité pour les sites de fixation des hormones; elles inhibent ainsi de façon compétitive la fixation des iodothyronines, ce qui se traduit par des valeurs faibles d'iodémie protéique : c'est le cas, par exemple, de la diphénylhydantoïne et des dérivés salicylés à fortes concentrations.

Il est important de souligner que certains composés iodés, endogènes ou exogènes, sont susceptibles d'élever artificiellement le taux d'iode protéique. Il peut s'agir de produits d'origine

thyroïdienne, dépourvus d'activité hormonale, comme on en met en évidence dans certains cancers, dans les thyroïdites, dans certains troubles de l'hormonogénèse ou immédiatement après un traitement par l'iode radioactif.

Mais, les erreurs les plus fréquentes sont dues à des composés exogènes (62) : cosmétiques, produits de contraste utilisés en radiologie, médicaments iodés multiples, dont l'élimination est parfois fort lente et qui perturbent les dosages pendant plusieurs années, voire plusieurs dizaines d'années après leur administration (116).

De tels inconvénients, attachés à une technique dont la mise en œuvre s'avère longue et minutieuse, nous ont placée devant deux impératifs :

- rechercher un procédé plus rapide du dosage de l'iode,
- adapter ce procédé à une méthode beaucoup plus spécifique d'évaluation des hormones thyroïdiennes.

2.- DOSAGE DE L'IODE SÉRIQUE TOTAL PAR VOIE AUTOMATIQUE

A.- PRINCIPE

La seule méthode chimique actuellement utilisable pour doser de très faibles quantités d'iode repose, comme nous l'avons vu, sur l'évaluation du pouvoir catalytique de l'halogène sur un système d'oxydo-réduction : sulfate cérique — anhydride arsénieux, selon la réaction décrite par SANDELL et KOLTHOFF (154).

Cette activité catalytique n'est pas le propre de l'iode minéral : elle appartient également aux composés aromatiques libres qui contiennent un ou plusieurs atomes d'iode en position ortho par rapport à un groupement donateur d'électrons (groupement hydroxylé ou aminé) mais la vitesse d'action est différente de celle des composés inorganiques. Par contre, l'halogène engagé dans des complexes liés organiquement est dépourvu de cette activité catalytique.

En conséquence, il est nécessaire d'opérer la réaction d'oxydo-réduction sur un produit homogène obtenu au cours d'une minéralisation qui, si elle doit évidemment être totale, doit aussi être réalisée dans des conditions telles qu'elle n'entraîne aucune perte par volatilisation. Cette opération peut être faite en milieu alcalin, à 600°, ou en milieu acide en présence d'un oxydant, mais à une température beaucoup moins élevée : seul ce dernier procédé est applicable à l'appareil de dosage automatique dont nous disposons (Autoanalyseur Technicon).

B.- RÉACTIFS

L'étude des différents facteurs intervenant sur la vitesse de réaction (pH, concentration en ions Cl^- , proportions relatives d'arsenic et de cérium) nous a conduit aux réactifs suivants :

1.- Eau déminéralisée (fournie par une bouteille SAGEI, type A.20 S)

2.- Acide sulfurique Merck (d. 1,84)

3.- Mélange nitro-perchlorique

Acide perchlorique Merck (d. 1,67) 400 ml

Acide nitrique Merck (d. 1,40) 100 ml

4.- Réactif au sulfate de cérium ammoniacal

Sulfate ammoniaco-cérique Merck (P.M. 632,59)	9,45 g
Acide sulfurique Merck (d. 1,84)	52 ml
Eau déminéralisée, q. s. p.	1.000 ml

Dans une fiole jaugée de 1 litre, introduire le sel de cérium puis environ 250 ml d'eau. Agiter pour dissoudre puis ajouter avec précaution l'acide sulfurique. Agiter, laisser refroidir la solution puis compléter à 1 litre. Mélanger.

5.- Solution alcoolique de phénolphtaléine à 0,2 pour 100.

6.- Réactif à l'anhydride arsénieux

Anhydride arsénieux R.P. (Prolabo, P.M. 197,82)	9,9 g
Soude en pastilles R.P. (Prolabo)	7,0 g
Acide sulfurique Merck (d. 1,84) q.s. (environ	35 ml)
Chlorure de sodium R.P. (Prolabo)	25,0 g
Eau déminéralisée, q. s. p.	1.000 ml

Dans une fiole jaugée de 1 litre, introduire l'anhydride arsénieux, la soude et environ 50 ml d'eau. Agiter jusqu'à dissolution complète puis ajouter environ 700 ml d'eau et quelques gouttes de solution de phénolphtaléine. Neutraliser avec de l'acide sulfurique jusqu'au moment précis de la décoloration. Verser alors avec précaution 28 ml d'acide sulfurique, mélanger et introduire le chlorure de sodium. Agiter à nouveau jusqu'à dissolution, laisser refroidir, compléter à 1 litre avec de l'eau déminéralisée et mélanger.

7.- Solution-mère d'iodate de potassium

Iodate de potassium R.P. (Prolabo, P.M. 214,02)	168,5 mg
Eau déminéralisée, q. s. p.	100 ml

Un ml de cette solution renferme 1 mg d'iode.

8.- Solution-fille d'iodate de potassium

Dilution aqueuse au centième de la solution-mère.

Ce réactif sert à préparer les différents étalons, qui renferment respectivement 0,5 — 1 — 2,5 — 5 — 10 — 15 et 20 microgrammes d'iode pour 100 ml.

C.- APPAREILLAGE ET CONDITIONS OPÉRATOIRES

- Autoanalyseur Technicon.
- Montage conforme au schéma N° 1.
- Vitesse de rotation de l'hélice de minéralisation : 8 tours/minute.
- Température de minéralisation : environ 350° (première zone de chauffage réglée sur 1 ampère, seconde zone sur 6 ampères).
- Température du bain-marie : 55°.
- Vitesse de passage des échantillons : 20 à l'heure.
- Colorimétrie : longueur d'onde à 420 nanomètres.
- Ligne de base obtenue en aspirant tous les réactifs et l'eau déminéralisée au lieu de sérum (densité optique : environ 0,80).
- Etalonnage préalable réalisé à l'aide des solutions contenant de 0,5 à 20 microgrammes d'iode pour 100 ml, ces étalons étant par ailleurs disséminés dans la série des sérums étudiés.

Ces courbes d'étalonnage sont représentées dans les schémas 2 et 3.

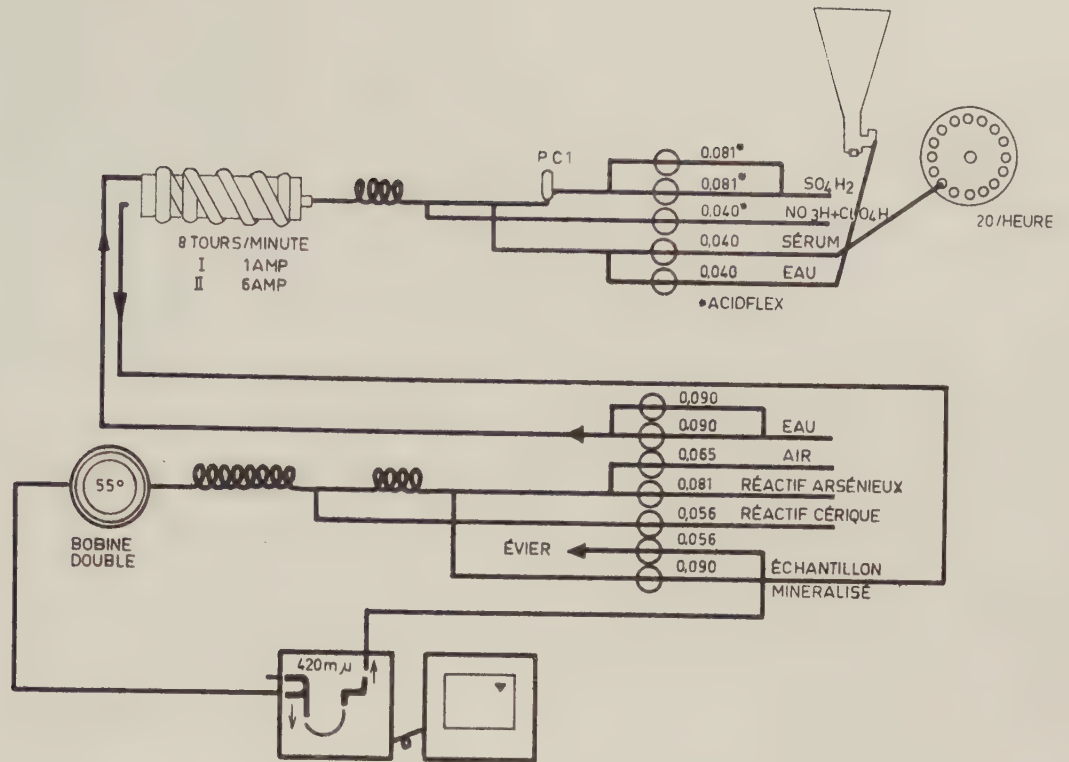


SCHÉMA N° 1 – MONTAGE POUR DOSAGE AUTOMATIQUE DE L'IODE

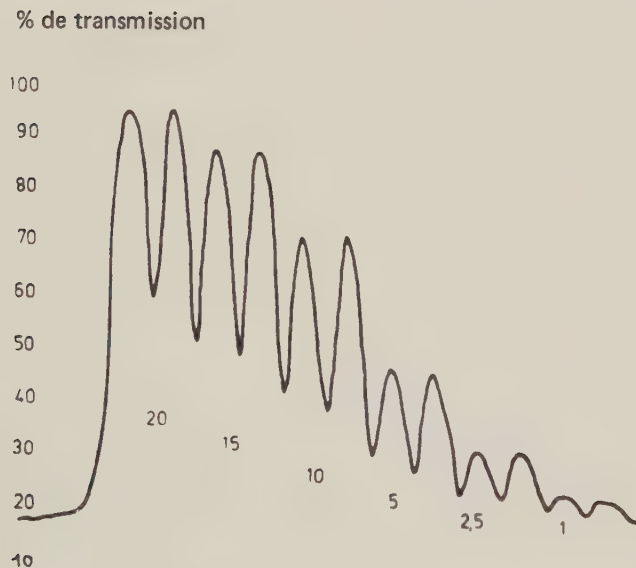


SCHÉMA N° 2 – COURBE D'ÉTALONNAGE (0 à 20 μ g d'iode pour 100 ml)

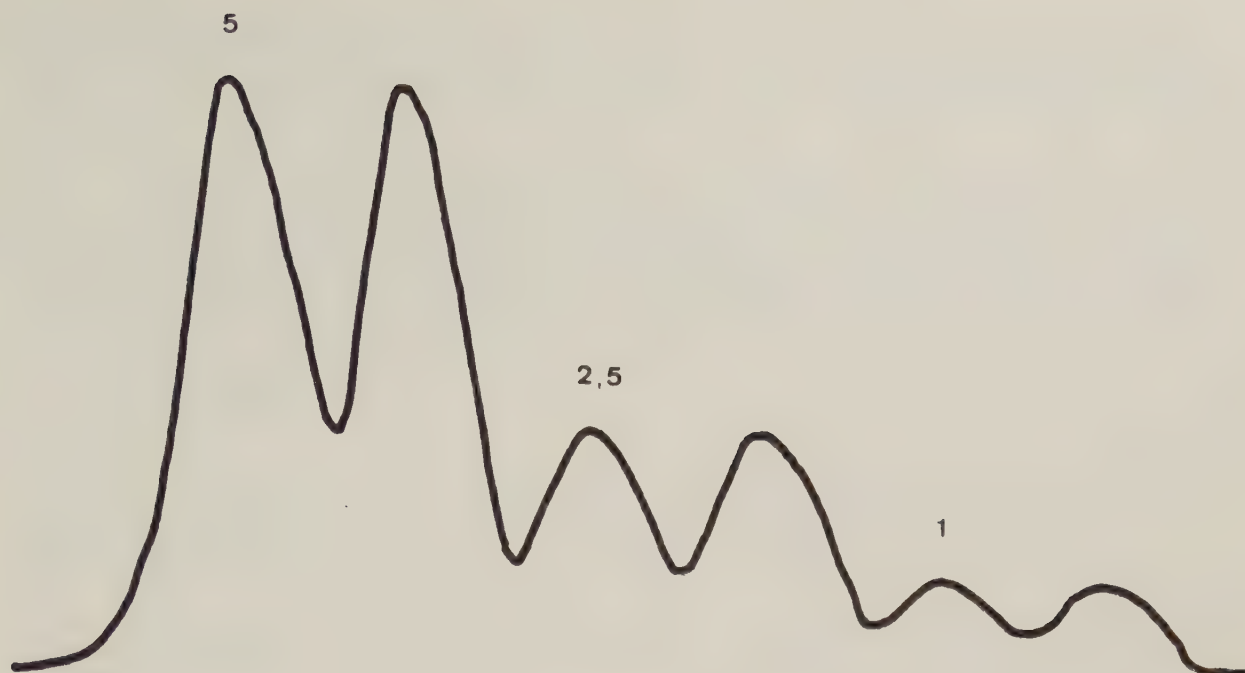


SCHÉMA N° 3 – GRANDEUR RÉELLE DE LA COURBE OBTENUE POUR LES VALEURS FAIBLES

Dans ces conditions, une solution renfermant 0,25 microgramme d'iode pour 100 ml — soit, compte tenu de la prise d'essai, une valeur absolue de 0,003 microgramme d'iode — fournit un pic décelable sur le tracé.

Le sang, prélevé à l'aide d'une aiguille à plateau, est recueilli dans des tubes à usage unique en polystyrène.

Chaque dosage est effectué dans deux godets successifs, ceci dans un double but :

- se garantir contre la souillure accidentelle d'un des godets : ceux-ci sont en effet utilisés tels qu'ils sont livrés par le fabricant et ne servent qu'une fois. Nous n'avons cependant jamais observé de tel incident sur plusieurs milliers de déterminations;
- éviter la contamination d'un sérum par le précédent lorsque les iodémies sont très différentes : on ne considère alors comme valable que le sommet de la courbe correspondant au second godet.

D.- DÉTECTION DES SÉRUMS SURCHARGÉS EN IODE

Il est nécessaire de détecter au préalable les prélèvements très surchargés en iode, tels qu'on en trouve après certaines thérapeutiques. En effet, introduits dans l'auto-analyseur, ils peuvent souiller le circuit entier — ce qui oblige à un rinçage très prolongé — mais ils risquent surtout de contaminer le prélèvement suivant, ce qui est particulièrement fâcheux quand un volume insuffisant ne permet pas une nouvelle détermination.

Il est possible de déceler ces surcharges par une technique manuelle (1) mais, là encore, l'auto-analyseur améliore le rendement.

Nous opérons sur une dilution ($\frac{1}{51}$) de chaque sérum, réalisée directement dans les godets de l'appareil, qui ont reçu au préalable 2,5 ml d'eau déminéralisée. Il suffit alors de mesurer dans

chacun d’eux 50 microlitres de sérum et de mélanger par retournement avant de les placer sur le plateau distributeur. L’opération est facilitée par l’emploi d’une seule pipette de type MARBURG, dont les embouts interchangeables évitent les rinçages entre les prélèvements successifs.

L’examen de la courbe obtenue renseigne immédiatement : toute dilution fournissant un pic supérieur à celui que produit un étalon à 0,5 microgramme d’iode pour 100 ml correspond à un prélèvement contenant à l’origine plus de 25 microgrammes d’iode pour 100 ml; par ailleurs, tout sérum dont la teneur initiale n’atteint pas 1.000 à 2.000 microgrammes d’iode pour 100 ml ne risque pas, ainsi dilué, de souiller l’appareil.

E.- RÉSULTATS

Si aucune souillure n’est intervenue au cours du prélèvement, les chiffres trouvés renseignent sur la quantité totale d’iode circulant, tant sous forme minérale que sous forme organique; ils sont ordinairement compris entre 4 et 9 microgrammes d’iode pour 100 ml.

Chez des sujets n’ayant reçu d’autres composés iodés que ceux qu’apporte l’alimentation normale, la fraction minérale reste toujours très faible : la confrontation des résultats obtenus par différents auteurs (174) objective des valeurs comprises entre 0,1 et 0,6 microgramme; en conséquence, les valeurs physiologiques de l’iodémie totale sont voisines de celles du P.B.I. C’est ce que nous avons vérifié par des dosages effectués sur 40 sérums, prélevés sur des sujets n’ayant jamais reçu de composés iodés à des fins thérapeutiques ou radiologiques, chaque sérum étant soumis à un dosage d’iode total par voie automatique et à un dosage d’iode protéique par la technique manuelle décrite au début de ce chapitre. Les résultats sont réunis dans le tableau N° 3. Ils doivent naturellement être interprétés en tenant compte des erreurs inhérentes à chacune des deux techniques (environ 3 pour 100 pour la méthode automatique et 5 à 8 pour 100 pour le P.B.I.), qui peuvent conduire, quand elles se conjuguent dans un sens défavorable, à des chiffres d’iode protéique égaux ou même parfois légèrement supérieurs à ceux de l’iode sérique total.

TABLEAU N° 3
IODE SÉRIQUE TOTAL ET IODE PROTÉIQUE
(en microgrammes pour 100 ml de sérum)

N°	Iode sérique total	Iode protéique	Différence	N°	Iode sérique total	Iode protéique	Différence
1	15,5	14	+ 1,5	21	15	15	0
2	17	16	+ 1	22	12	12	0
3	17	16	+ 1	23	6,5	6,5	0
4	13,5	12,5	+ 1	24	6,0	6,0	0
5	5,5	4,5	+ 1	25	5,5	5,5	0
6	6,7	6	+ 0,7	26	5,5	5,5	0
7	16	15,5	+ 0,5	27	5	5	0
8	14	13,5	+ 0,5	28	4,5	4,5	0
9	10,5	10	+ 0,5	29	4,5	4,5	0
10	9	8,5	+ 0,5	30	4	4	0
11	8,5	8	+ 0,5	31	3,7	3,7	0
12	6,5	6	+ 0,5	32	1,5	1,5	0
13	5,5	5	+ 0,5	33	6,8	7	− 0,2
14	1	0,7	+ 0,3	34	6,8	7	− 0,2
15	6,2	6	+ 0,2	35	13,7	14	− 0,3
16	10,2	10	+ 0,2	36	10,7	11	− 0,3
17	6,7	6,5	+ 0,2	37	5,2	5,5	− 0,3
18	5,2	5	+ 0,2	38	4,7	5	− 0,3
19	5,2	5	+ 0,2	39	4,7	5	− 0,3
20	3,2	3	+ 0,2	40	4,2	4,5	− 0,3

Il serait néanmoins hasardeux de s'en tenir à cette seule détermination de l'iodémie totale car, s'il est possible de se contenter de cette estimation lorsque le résultat est très faible, il est dangereux de chercher à interpréter des valeurs élevées ou même normales. Le faire reviendrait à admettre, *a priori* :

- d'une part, que le sujet n'a jamais reçu de surcharge iodée, même très ancienne; or, ces surcharges peuvent, bien entendu, coïncider avec des hypothyroïdies, et même en être parfois la cause,
- d'autre part, que le sérum ne renferme aucun composé organique iodé anormal.

Ce sont ces difficultés qui nous ont conduite à mettre au point une méthode de dosage de l'iode hormonal sérique.

3.- DOSAGE DE L'IODE HORMONAL SÉRIQUE

Ce dosage comporte deux temps :

- isolement de la fraction hormonale,
- minéralisation et dosage de l'iode contenu dans cette fraction.

Nous ne relaterons que ce qui a trait au premier étant donné que le dosage de l'iode vient d'être examiné.

ISOLEMENT DE LA FRACTION HORMONALE

A.- PRINCIPE

Parmi les nombreux procédés apportant une amélioration de sélectivité dans le dosage des iodothyronines, nous avons retenu ceux qui utilisent les résines échangeuses d'ions. Les résines anioniques, type Dowex 1 et Dowex 2 présentent une grande affinité pour l'iode et les iodures (26); elles permettent une séparation instantanée de l'iode minéral et de l'iode organique (119) et l'évaluation des iodotyrosines et thyronines par éluations successives (82, 119, 141).

Par l'utilisation de deux résines superposées, l'une cationique (Dowex 50), l'autre anionique (Dowex 1), BLANQUET et coll. (27) séparent les composés iodés radioactifs plasmatiques en trois fractions :

- une fraction minérale, retenue sur la résine inférieure (Dowex 1),
- deux fractions organiques, dont l'une d'entre elles, fixée sur la colonne supérieure de Dowex 50, correspond à l'iode hormonal; quant à l'iode organique dépourvu d'activité métabolique, il filtre sans être retenu.

Nous avons donc eu recours à l'emploi de cette résine cationique pour l'isolement de l'iode hormonal.

B.- MATÉRIEL

Colonnes de verre de 8 mm de diamètre intérieur sur 25 cm de hauteur, soigneusement lavées.

C.- RÉACTIFS

- Résine Dowex 50 WX2, 200-400 mesh, forme H⁺
- Ammoniaque 2 N préparée par dilution d'ammoniaque concentrée (Merck ou Prolabo) avec de l'eau déminéralisée
- Eau déminéralisée.

D.- TECHNIQUE

Dans les tubes de verre décrits ci-dessus, réaliser des microcolonnes de résine de 3 cm de hauteur.

Verser sur cette résine 2 ml de sérum puis 3 ml d'eau déminéralisée, laver ensuite avec 20 ml d'eau déminéralisée utilisée en 4 fois, en accélérant au besoin le passage par une légère surpression.

Quand tout le liquide est écoulé, éluer les hormones fixées sur la résine au moyen de 8 ml d'ammoniaque 2 N. Nous avons retenu ce volume de 8 ml de liquide d'élution à la suite de bilans de radioactivité prouvant qu'on récupérait ainsi environ 95 pour 100 des hormones fixées.

L'éluat, recueilli dans un tube soigneusement lavé, va servir au dosage de l'iode hormonal, soit directement, soit après concentration et élimination de l'ammoniaque. Si on l'utilise directement, il est nécessaire de le recueillir dans un tube gradué afin de connaître le volume final pour calculer la dilution du sérum primitif (environ $\frac{1}{4}$). Si on préfère concentrer et éliminer l'ammoniaque, dans les cas de valeurs prévues basses par exemple, il est recommandé de recevoir l'éluat dans un tube rodé s'adaptant sur un évaporateur rotatif. Il est préférable de ne pas évaporer à sec, mais de garder un peu de liquide, qu'on transvasera dans un tube préalablement jaugé à 2 ml, en ayant soin de récupérer par un ou deux rinçages ce qui peut rester sur les parois.

E.- RÉSULTATS

Les valeurs de l'iode hormonal dosé par cette méthode sont, chez l'adulte sain, comprises entre 3,6 et 7 microgrammes pour 100 ml de sérum. Elles correspondent sensiblement à celles que l'on obtient par les techniques utilisant l'extraction par le butanol : butanol extractible iodine ou B.E.I. (106).

F.- INTÉRÊT ET LIMITES DE LA TECHNIQUE

Dans la grande majorité des cas, l'iodémie hormonale ainsi évaluée est un fidèle reflet du fonctionnement thyroïdien : inférieure à 3,5 microgrammes dans les hypothyroïdies, elle est généralement comprise entre 7,5 et 16 microgrammes dans les hyperthyroïdies, comme l'indiquent les résultats du tableau N° 4.

TABLEAU N° 4

IODE SÉRIQUE TOTAL ET IODE HORMONAL (microgrammes pour 100 ml)
CHEZ DES SUJETS N'AYANT PAS REÇU DE COMPOSÉS IODÉS

Clinique	Iode sérique total	Iode hormonal	Clinique	Iode sérique total	Iode hormonal
Euthyroïdie	5,4	4,1	Goitre opéré	2,6	1,6
—	6,5	4,6	Hypothyroïdie	3,5	1,2
—	6,6	5,5	—	3,2	1,7
—	5,4	4,5	—	1,7	0,8
—	7	5,5	—	1	0,5
—	6,3	4,7	—	3,8	2,9
—	6	4,1	—	3	0,9
—	5,6	4,2	—	3	1,2
—	5,4	4	—	3,2	1,2
—	5,2	4	—	2,4	0,9
—	6,7	5	Basedow	17,5	16
—	5,8	4	—	11	9,6
—	4,8	4,1	—	15	14,2
—	4,5	3,7	—	11	10
—	5,7	4,6	—	11,2	10,5
—	6,7	5,9	—	10	9,7
—	4,7	3,9	—	14,4	12,6
—	7,6	6,0	—	12,9	10
—	6,4	5,2	—	12,5	10,5
—	6,2	5,5	—	18,5	16,8

Nous avons cherché à apprécier la validité de cette méthode par confrontation de ses résultats avec les chiffres de thyroxinémie obtenus selon le principe de l'analyse par compétition préconisée par MURPHY et PATTEE (127), dont la spécificité est excellente. Des comparaisons effectuées sur un total de 110 dosages couplés, groupant des sujets sains, et malades, il ressort une excellente corrélation, attestée par la valeur du coefficient " r ", égal à 0,957 (105).

Par ailleurs, nous avons pu vérifier que l'extraction hormonale sur Dowex 50 est souvent un procédé intéressant pour éliminer bon nombre de surcharges iodées minérales ou organiques réputées pour augmenter artificiellement les valeurs du P.B.I. Les résultats sont indiqués dans le tableau N° 5.

TABLEAU N° 5

IODE SÉRIQUE TOTAL ET IODE HORMONAL (microgrammes pour 100 ml)
CHEZ DES SUJETS AYANT REÇU DES COMPOSÉS IODÉS

Clinique	Thérapeutique iodée	Iode total	Iode hormonal
Euthyroïdie	Lipiodol	17	4,5
—	—	50	5,6
—	—	20	5,6
—	Lipiodol + Naiodine	110	6,5
—	Entérovioforme	40	5,5
—	Micelliode	400	4,9
—	Rucronyl	2.800	6,5
—	Pneumogéine	22,5	4,3
—	—	137	4,5
—	—	97	4,5
—	Lugol	11,3	6,9
—	Antiasthmaticque	13,4	5,5
—	—	24	4,4
—	Antirhumatismale	18	5
—	—	225	6,7
—	Non précisée	35	4,5
—	—	460	4,2
—	—	400	3,8
—	—	280	3,6
Légère hyperthyroïdie	Lipiodol	175	8
—	Lipiodol + INa en I.V.	2.300	8
Hyperthyroïdie	—	2.350	10
—	Lipiodol	67	10,5
—	—	112	10
—	Entérovioforme	16	9
—	Opacifiant biliaire	21	13,5
—	Non précisée	20	13
—	—	160	10
—	—	23	12,8
Cardiothyroïse	Lipiodol	70	13,8
—	—	25	14
—	Antiasthmaticque	37	9,2
Myxœdème	IK	70	2
—	Cafédrine	195	2,5
—	Non précisée	50	1,2
—	—	17	1,5
—	—	315	2,5
Goitre par l'iode	Eupnine	140	1,2
Goitre opéré	Non précisée	47	2,8
—	—	24	2



Nous avons, en outre, pu apprécier avec certitude l'efficacité de cette élimination en dosant l'iodémie hormonale avant et après absorption de médicaments iodés connus qui élevaient l'iodémie totale jusqu'à des valeurs considérables, de l'ordre de quelques milligrammes pour 100 ml. Les conditions très particulières de cette étude expliquent qu'elle n'a pu porter, au cours de ces dernières années, que sur une population relativement réduite et surtout sur une variété de composés iodés assez limitée. Le nombre de ces produits augmente, comme on le sait, chaque jour et certains d'entre eux, comme l'acide iopanoïque, l'amiodarone et la benziodarone, par exemple, nous posent encore des problèmes qui ne peuvent être résolus, il faut le dire, que par la méthode par compétition (105).

Il convient également de faire deux remarques relatives à l'interprétation des résultats fournis par ce dosage, mais qui ne sont pas propres à notre technique.

C'est d'abord le fait que l'iode hormonal circulant représente un équilibre dynamique entre les thyronines sécrétées par la glande et celles qui sont consommées par les tissus; or, une consommation exagérée peut très bien masquer une production excessive.

Par ailleurs, on évalue ainsi le bloc T3 + T4 (c'est-à-dire : 3 — 5 — 3' — triiodothyronine + thyroxine), sans préjuger de la labilité de liaison des hormones avec les protéines vectrices ni des proportions relatives de chacun des deux composés, dont les activités métaboliques sont, comme chacun le sait, très inégales.

Ces considérations nous semblent pouvoir expliquer certains cas — fort rares il est vrai — où les résultats sont en contradiction apparente avec ceux d'autres explorations biologiques ou avec l'observation clinique du malade.

*
* * *

Nous avons l'intention d'appliquer au sérum de Lapin cette méthode mise au point pour les besoins de l'exploration thyroïdienne chez l'Homme.

Faute de renseignements précis sur le mode de transport et sur les valeurs de l'iode hormonal chez le lapin, nous avons commencé par effectuer sur 23 animaux normaux des dosages comparatifs d'iodémie protidique et d'iodémie hormonale.

Nous avons d'abord été frappée par les faibles valeurs des résultats obtenus (microgrammes pour 100 ml)

	Moyenne	Valeurs extrêmes
Iodémie protidique	3,1	1,0 et 6,6
Iodémie hormonale	1,9	0,4 et 4,4

Mais, dans un travail récent relatif au dosage des hormones thyroïdiennes chez les animaux de laboratoire, AUCLAIR (19) rapporte pour le Lapin des valeurs du P.B.I. comprises entre 2,5 et 3,5 microgrammes.

Notre attention a également été retenue par les différences assez sensibles entre les iodémies protidique et hormonale. Ces différences, dues à l'abondance relative de

dérivés organiques iodés non hormonaux, sont moins importantes dans l'espèce humaine mais nous savons que le métabolisme iodé du Lapin n'est pas identique à celui des autres mammifères et que la désiodation est notamment beaucoup moins rapide (146, 147, 148).

Ces valeurs normales étant établies, nous avons effectué une étude comparative sur une série de 16 animaux, comportant 8 Lapins normaux et 8 autres, surchargés par des doses variables de thyroxine. Nous étions ainsi assurée de taux d'iodémies protéique ou hormonale très variables, ce qui permettait une bonne étude comparative des résultats enregistrés.

Le coefficient de corrélation " r " obtenu est de 0,978. La probabilité est naturellement excellente (moins de 0,001) mais il faut surtout souligner que la valeur de " r ", très proche de l'unité, indique que la relation entre les deux méthodes de dosage est pratiquement linéaire. Nous avons donc pu, sans aucun risque d'erreur, remplacer au cours de ce travail les difficiles déterminations de P.B.I. dans le sang des Lapins par celles de l'iodémie hormonale, de mise en œuvre relativement plus aisée.

4.- DOSAGE DES GLOBULINES SÉRIQUES

Les globulines, précipitées sur 0,1 ml de sérum par le sulfate d'ammonium à demi-saturation, en milieu neutre, sont redissoutes dans un soluté isotonique de chlorure de sodium. Sur une partie aliquote de la solution obtenue, les protéines sont dosées par la méthode de LOWRY et coll. (114).

5.- DOSAGE DE L'HÉMOGLOBINE DANS LE SANG

L'évaluation de l'hémoglobémie, préférée à la numération des hématies pour des raisons de plus grande précision, a été réalisée à l'état de cyanméthémoglobine par le réactif de DRABKIN modifié (74).

*
* * *

DEUXIEME PARTIE

BIOLOGIE

CHAPITRE III

GRANULOCYTES BASOPHILES ET EOSINOPHILES SANGUINS CHEZ LA FEMME NORMALE AU COURS DU CYCLE MENSTRUEL ET CHEZ L'HOMME NORMAL AU COURS DE PERIODES DE DUREE IDENTIQUE

1.- RAISONS DE L'ÉTUDE

Un des buts de ce travail étant de connaître s'il existe des corrélations entre la représentation numérique dans le sang des granulocytes basophiles et éosinophiles d'une part et l'iodémie hormonale sérique d'autre part, il était nécessaire d'essayer d'apprécier l'ampleur des fluctuations des résultats hématologiques obtenus chaque jour durant une période assez longue, en particulier chez la femme au cours du cycle menstruel, afin de connaître l'importance de l'incertitude inhérente à un résultat isolé, en l'espèce celui du jour où était effectué un dosage d'iodémie hormonale sérique.

Il aurait été souhaitable, par ailleurs, de procéder à une enquête comparable chez des femmes ménopausées suivies quotidiennement pendant quatre semaines, mais comme il était obligatoire de prendre des sujets sains, dépourvus de toute thérapeutique, il ne pouvait être question de recourir à des malades hospitalisés; nous avons donc été contrainte de faire appel au personnel du laboratoire. Ce personnel ne comprenant pas de femmes ménopausées, nous avons donc choisi d'opérer sur des hommes normaux, pendant une période de 25 à 30 jours.

Il est évident que ces sujets ne peuvent servir qu'à évaluer l'amplitude des éventuelles variations leucocytaires; chaque période d'étude commence donc un jour quelconque, aucun argument valable ne pouvant être retenu pour choisir une date préférentiellement à une autre.

2.- TRAVAUX ANTÉRIEURS

Des recherches de MORLEY (126), il semble ressortir qu'il existe chez la majorité des individus un cycle des polynucléaires neutrophiles, dont l'amplitude est de 1.000 à 1.500 cellules par microlitre de sang, et qui s'étend sur une durée de 14 à 23 jours : ce phénomène peut d'ailleurs s'exagérer au cours d'une affection (neutropénie cyclique), dont le déterminisme est inconnu.

Rien ne s'oppose donc, à priori, à ce que ce fait intéresse également les cellules que nous étudions.

Les recherches relatives à l'influence des hormones sexuelles sur les granulocytes basophiles et éosinophiles ont consisté principalement en injections de produits hormonaux

(15, 65, 143); les expériences de castration étant peu nombreuses (13, 161), on a également cherché s'il existait une différence significative selon le sexe dans l'espèce humaine (5, 31, 48, 98, 125, 149, 152, 170) ou dans diverses espèces animales (33, 71, 158), mais les résultats sont souvent contradictoires.

L'étude particulière des variations éventuelles au cours du cycle, qui ne porte souvent que sur un nombre réduit de sujets, est également déconcertante dans ses résultats. PEPPER et coll. (130) et DAVIS (63) constatent que la valeur la plus basse des éosinophiles circulants se situe au milieu du cycle; elle coïncide d'ailleurs avec une leucocytose (130). PATAK (129), par contre, remarque que les chiffres les plus faibles prennent place à la fin de la phase lutéale — un ou deux jours avant les règles — et qu'ils sont l'aboutissement d'une chute progressive, alors que l'éosinophilie maximale s'observe au début de la période folliculaire.

Etudiant les basophiles, BRAUNSTEINER (39), ainsi que POTUZHEK et coll. (143), ne trouvent aucune corrélation avec le cycle menstruel, contrairement à ce que constatent THONNARD-NEUMANN (168) et BOSEILA (31).

Le premier remarque que les valeurs les plus faibles s'observent une semaine avant l'ovulation et les plus élevées au début des règles, le point maximal pouvant être légèrement décalé avant ou après ce moment; enfin, il enregistre souvent une chute au milieu du cycle, sauf toutefois dans les cycles courts avec hyperménorrhée.

Le second constate des variations positives et négatives qui lui suggèrent une interférence possible du cycle, mais sans pouvoir apporter plus de précision, le nombre des sujets étudiés (quatre) étant par trop réduit. Il rapproche d'ailleurs ses observations de celles que ZACHARIAE avait faites sur la Lapine (181), et qu'il confirma lui-même (32), à savoir une chute du nombre des basophiles circulants 10 à 12 heures après la copulation, c'est-à-dire au moment présumé de l'ovulation chez l'animal.

3.- RECHERCHES PERSONNELLES

A.- PROTOCOLE OPÉRATOIRE

L'ensemble de ces résultats, quelque peu déconcertants, devaient nous décider à reprendre, avec le plus de rigueur possible et sur un nombre suffisant de sujets, l'étude d'une éventuelle influence du cycle menstruel sur les leucocytes considérés.

Il nous faut souligner en préambule la difficulté pratiquement insurmontable de mener une semblable expérimentation dans des conditions rigoureusement parfaites. Il est en effet extrêmement malaisé de trouver des volontaires qui acceptent, pendant environ un mois, d'être présents au laboratoire chaque jour — dimanches et jours fériés compris — à heure fixe et dans des conditions physiologiques identiques (importance du petit déjeuner, absence d'effort physique dans la demi-heure précédant l'examen, etc.). Par ailleurs, il n'est pas rare que les affections les plus banales (coryza, angine bénigne), génératrices de perturbations portant non seulement sur les granulocytes neutrophiles et éosinophiles mais également sur les basophiles (110), viennent annihiler à tous moments les observations les mieux conduites en commandant l'interruption immédiate de l'étude, qui ne peut être reprise qu'au début du cycle suivant.

Les résultats que nous rapportons concernent donc 22 femmes et 4 hommes de 20 à 45 ans, en excellente santé. La disparité dans la taille des deux populations soumises à l'enquête s'explique par le fait que nous étions surtout préoccupée par les fluctuations au cours du cycle menstruel, les hommes servant de témoins.

Les 4 hommes et 9 des 22 femmes ont été suivis de façon parfaite, c'est-à-dire par un prélèvement quotidien; pour les autres sujets, le nombre des examens hématologiques pratiqués au cours du cycle oscille autour d'une vingtaine, avec cependant une exception (14 examens). Les explorations des 26 sujets ont été effectuées sur du sang capillaire, prélevé le matin vers 9 h 30. Les numérations ont porté, comme à l'habitude, sur 0,1 microlitre pour les leucocytes totaux et sur 5 microlitres pour les basophiles et éosinophiles.

B.- RÉSULTATS

Etant donné que les cycles sont de durées inégales et que, pour des cycles égaux, l'ovulation n'intervient pas obligatoirement le même jour du cycle, le seul moyen logique de présenter nos observations consiste, semble-t-il, à tracer des graphiques individuels groupant les résultats des numérations d'éosinophiles et de basophiles afin de pouvoir étudier plus facilement la simultanéité des variations.

Nous avons envisagé successivement les valeurs absolues (nombre de cellules par microlitre de sang) puis les valeurs relatives (nombre de granulocytes éosinophiles ou basophiles pour 100 leucocytes circulants).

Les résultats enregistrés sont consignés dans les figures suivantes :

FEMMES

- Valeurs absolues : figures 1, 2 et 3
- Valeurs relatives : figures 4, 5 et 6

HOMMES

- Valeurs absolues : figure 7
- Valeurs relatives : figure 8

4.- DISCUSSION DES RÉSULTATS

L'examen des graphiques correspondant aux nombres absolus de cellules révèle qu'il existe, au cours des cycles féminins, des fluctuations importantes mais apparemment désordonnées; par ailleurs, elles se retrouvent également sur les tracés obtenus chez les hommes.

Si l'on considère les graphiques des valeurs relatives, on remarque que les oscillations n'interviennent jamais à des moments privilégiés du cycle mais qu'elles sont grossièrement parallèles.

Deux explications au moins peuvent être données à ce phénomène :

- stabilité du nombre des granulocytes basophiles et éosinophiles coïncidant avec des variations irrégulières du nombre des leucocytes totaux,
- variations réellement parallèles des nombres absolus des basophiles et éosinophiles, alors que ceux des leucocytes totaux ne sont pas modifiés.

L'examen des graphiques établis avec les valeurs absolues n'objective pas la première hypothèse mais serait plus en accord avec la seconde. Cependant, il nous faut insister sur le fait que ces fluctuations ne semblent nullement liées à une période quelconque du cycle, le phénomène s'observant d'ailleurs assez souvent chez l'homme.

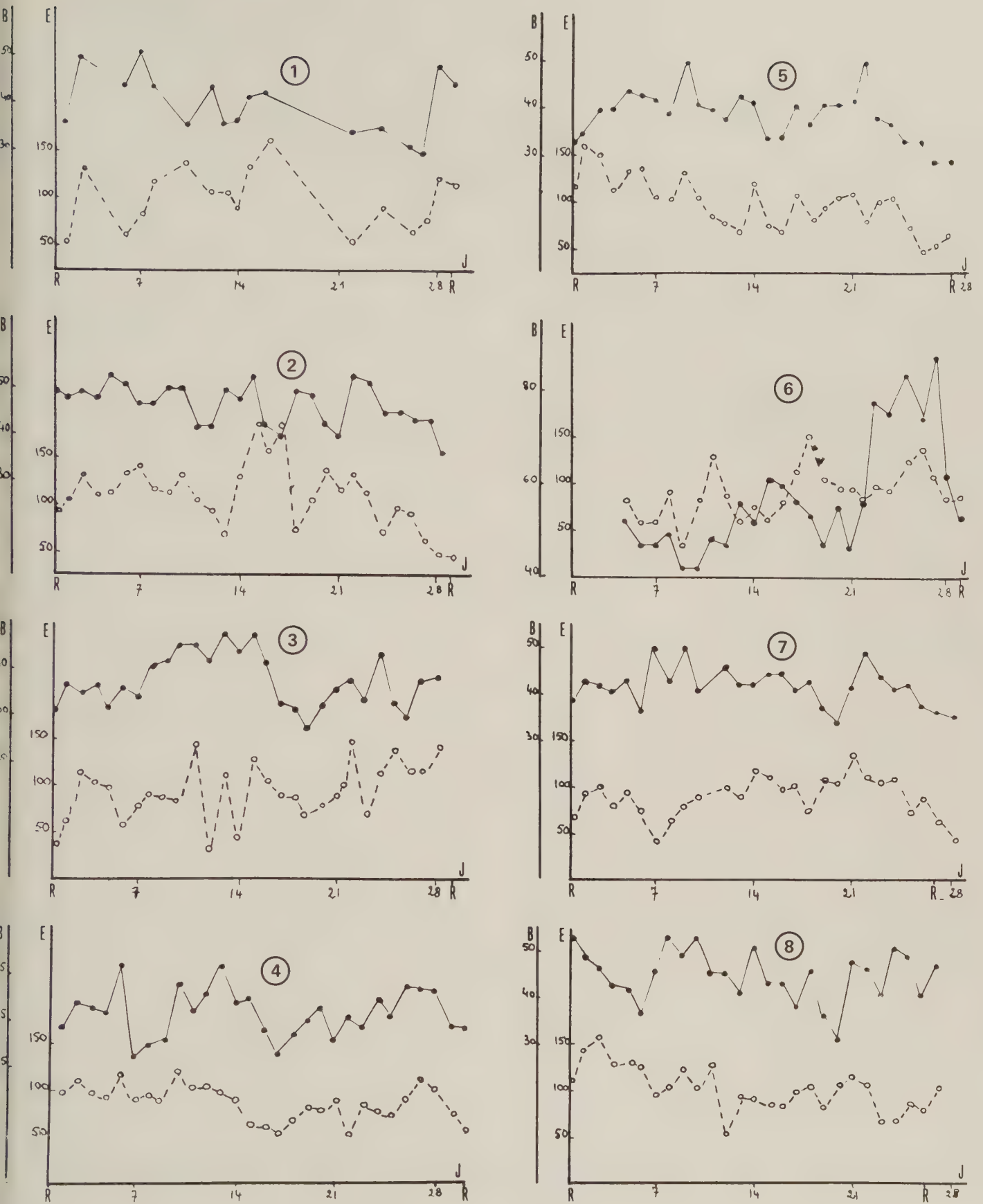


FIGURE 1 — Granulocytes basophiles (●—●) et éosinophiles (○—○) sanguins circulants au cours du cycle menstruel.

B = Nombre de basophiles par microlitre de sang.

E = Nombre d'éosinophiles par microlitre de sang.

J = Jours

R = Début des règles.

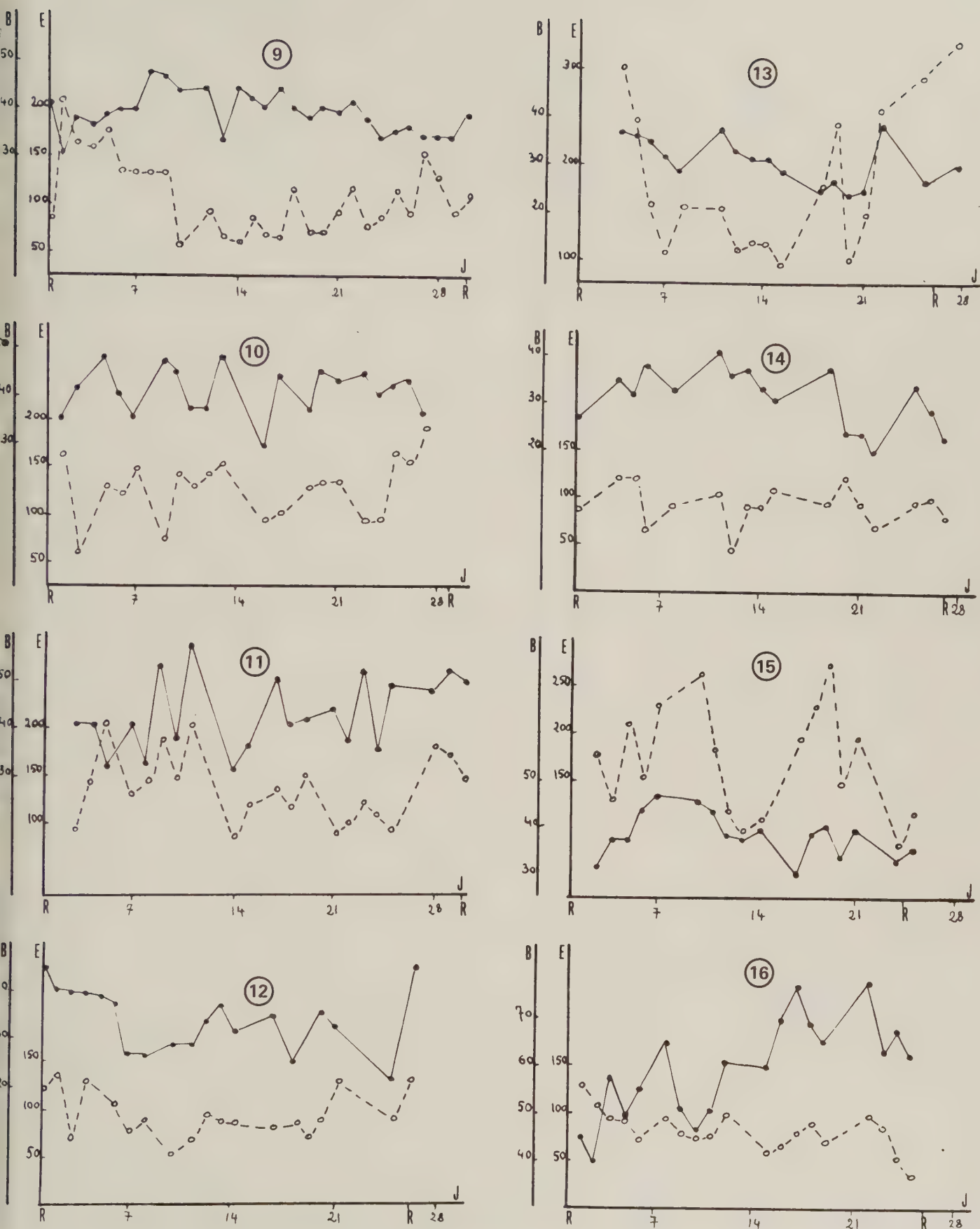


FIGURE 2 — Granulocytes basophiles (●—●) et éosinophiles (○—○) sanguins circulants au cours du cycle menstruel (cf. Fig. 1)

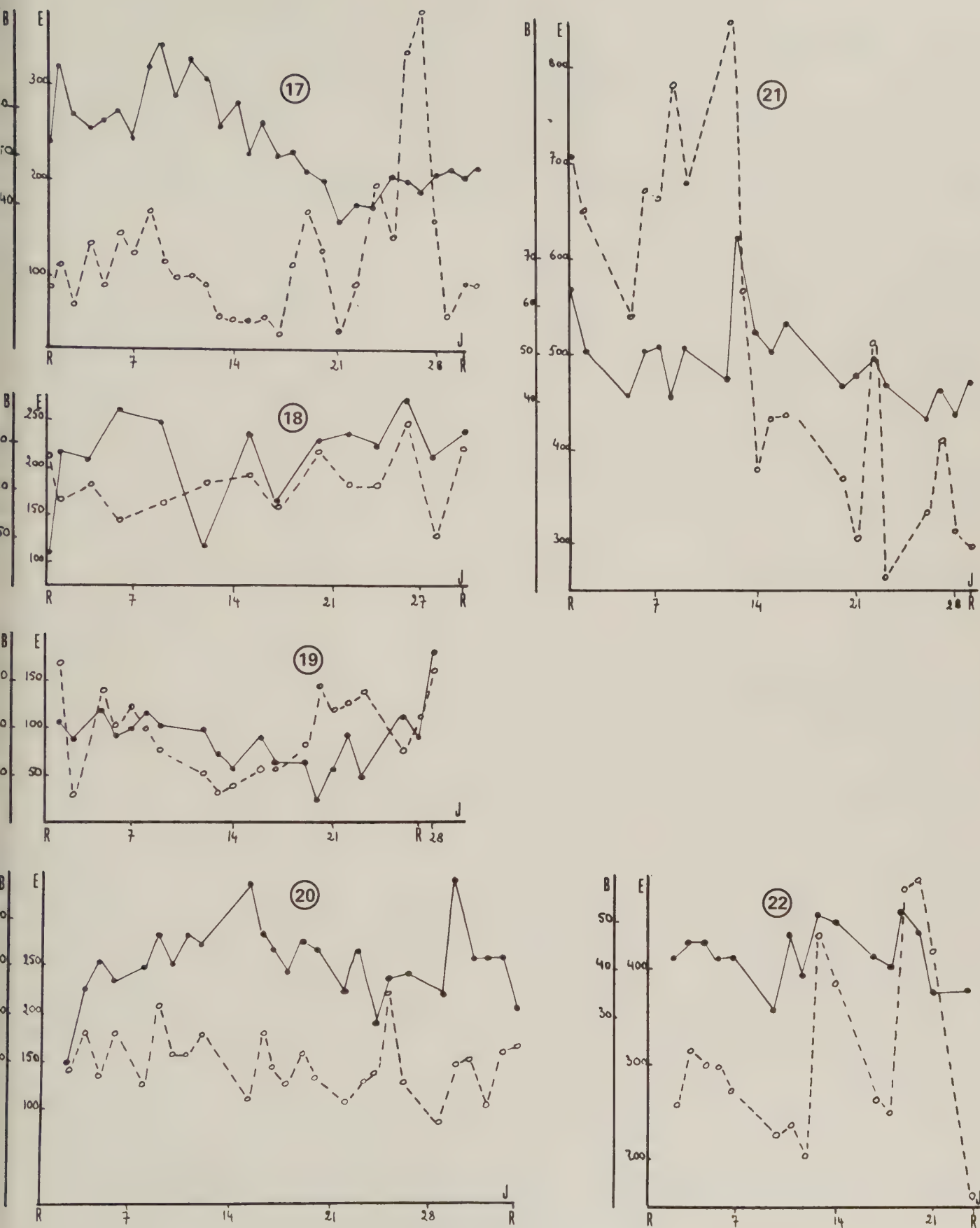


FIGURE 3 — Granulocytes basophiles (●—●) et éosinophiles (○---○) sanguins circulants au cours du cycle menstruel (cf. Fig. 1)

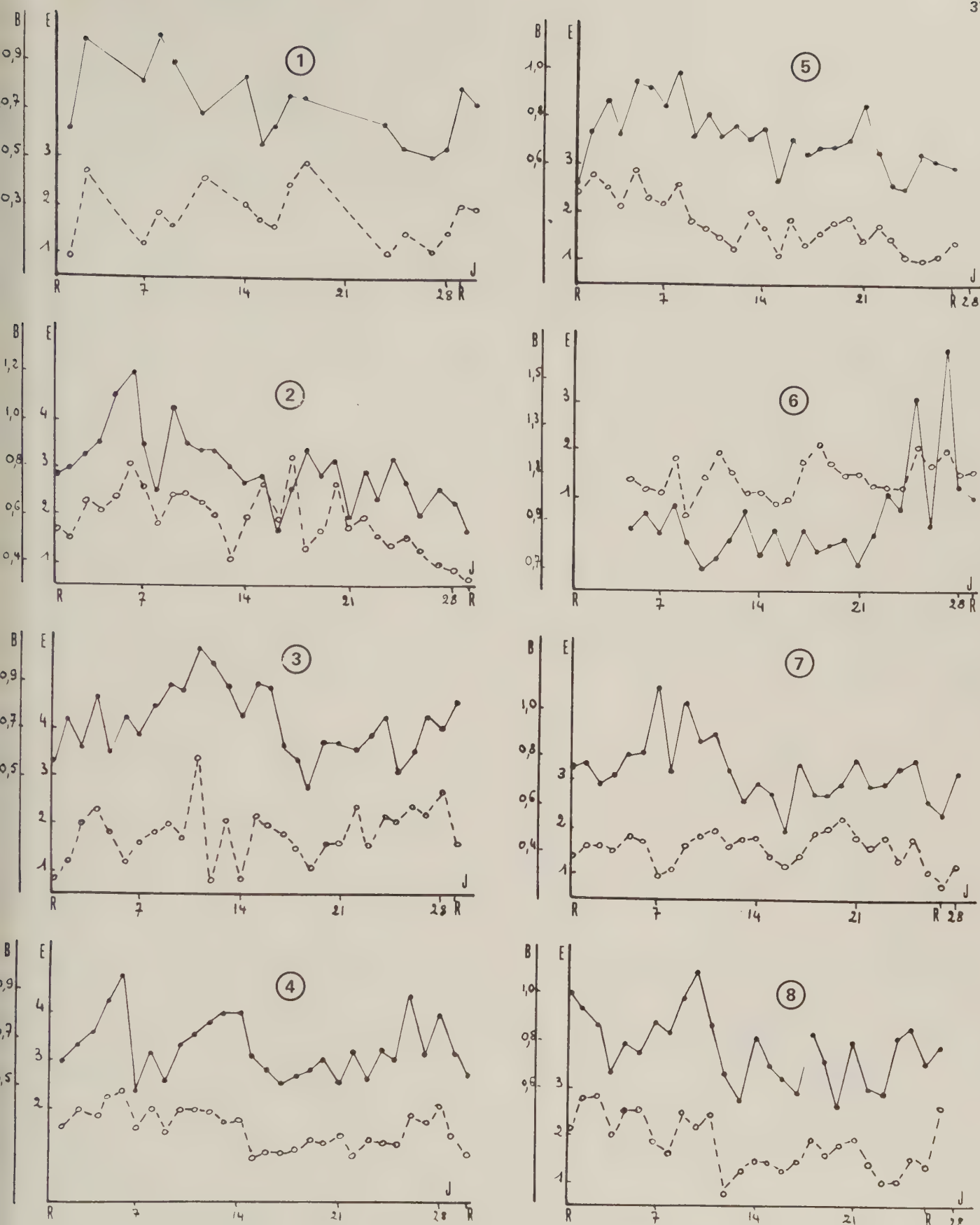


FIGURE 4 — Pourcentage de granulocytes basophiles (●—●) et éosinophiles (○—○) sanguins circulants au cours du cycle menstruel

B = Nombre de granulocytes basophiles pour 100 leucocytes.

E = Nombre de granulocytes éosinophiles pour 100 leucocytes.

J = Jours.

R = Début des règles.

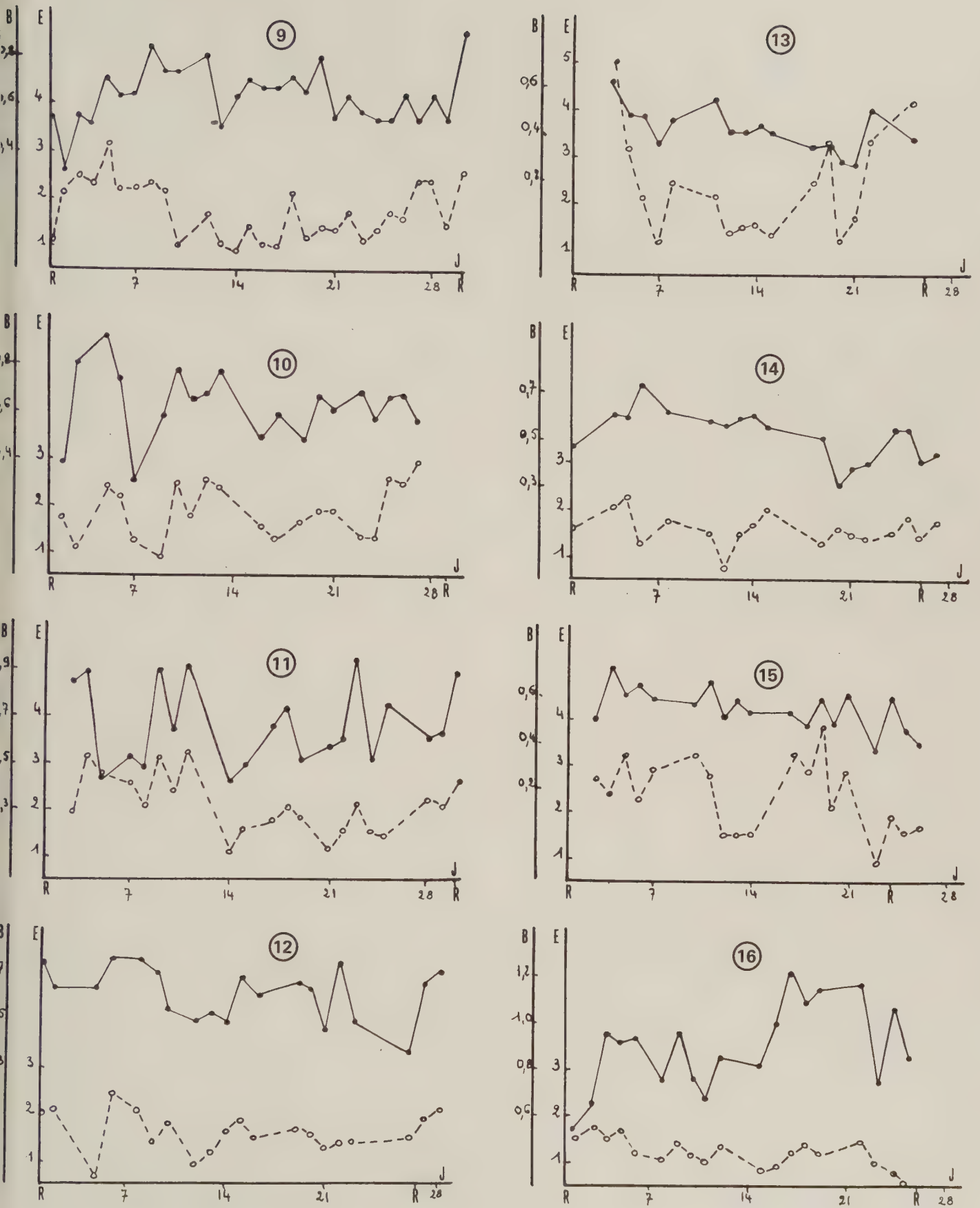


FIGURE 5 — Pourcentage de granulocytes basophiles (●—●) et éosinophiles (○—○) circulants au cours du cycle menstruel (cf. Fig. 4)

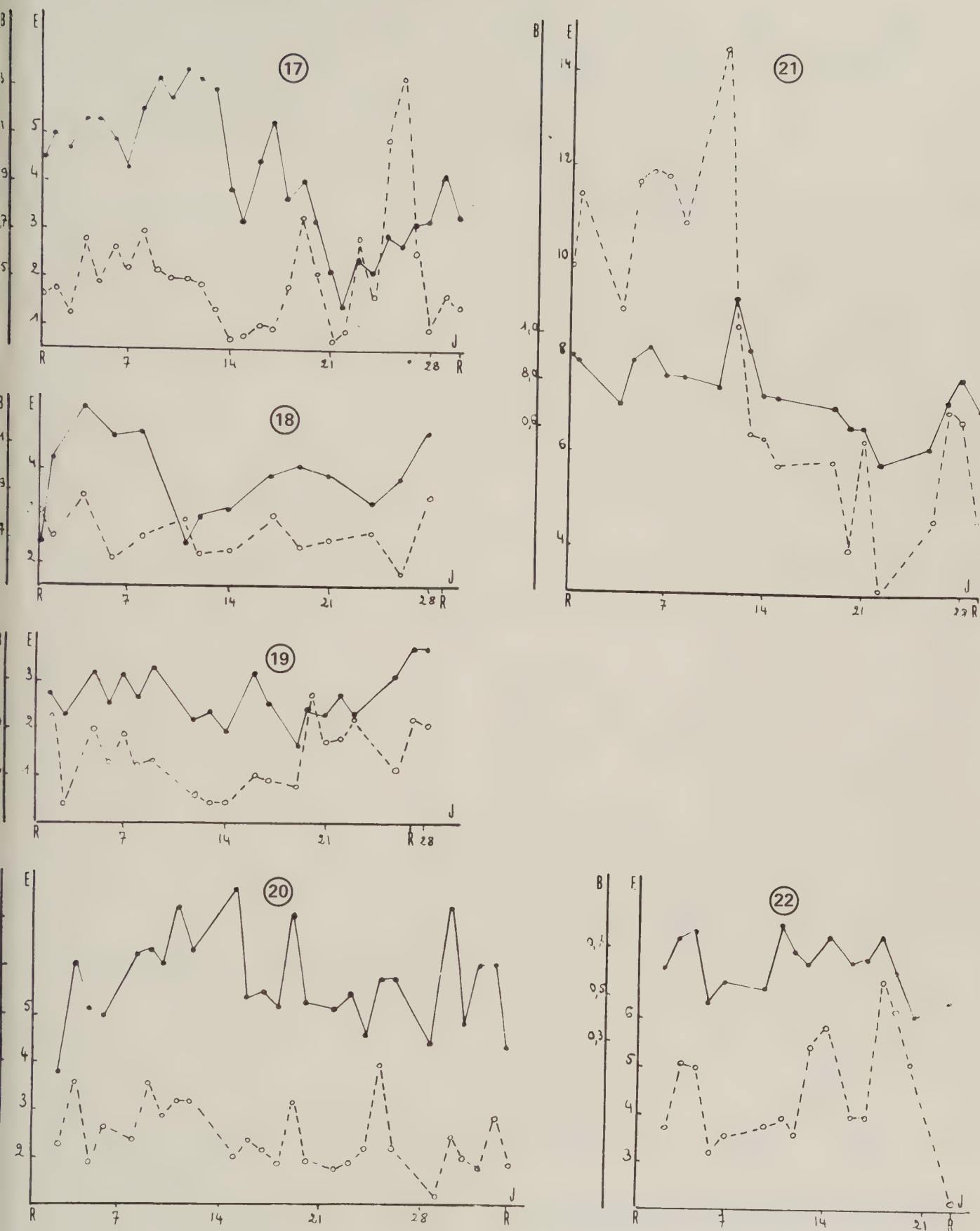


FIGURE 6 — Pourcentage de granulocytes basophiles (●—●) et éosinophiles (○—○) sanguins circulants au cours du cycle menstruel (cf. Fig. 4)

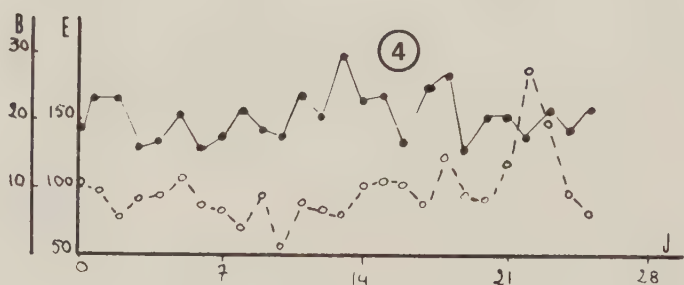
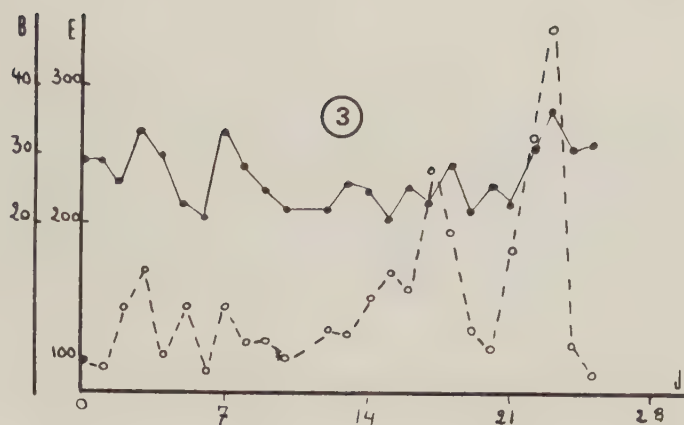
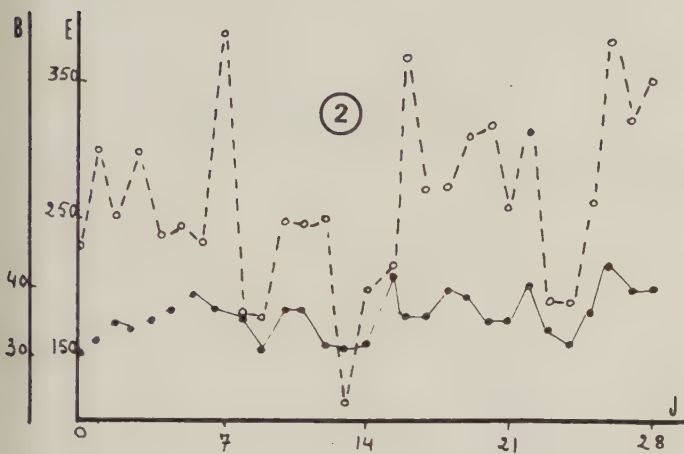
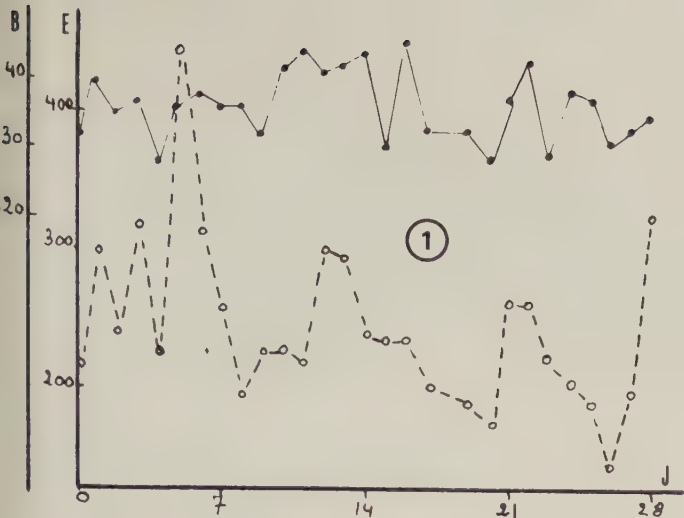


FIGURE 7 — Granulocytes basophiles (●—●) et éosinophiles (○---○) étudiés chez l'homme pendant une période de 4 semaines

B = Nombre de basophiles par microlitre de sang
E = Nombre d'éosinophiles par microlitre de sang
J = Jours

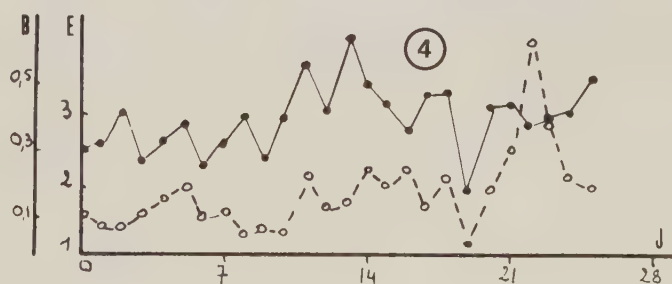
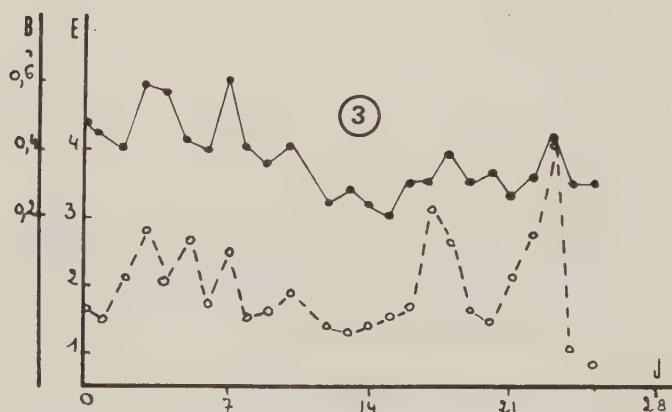
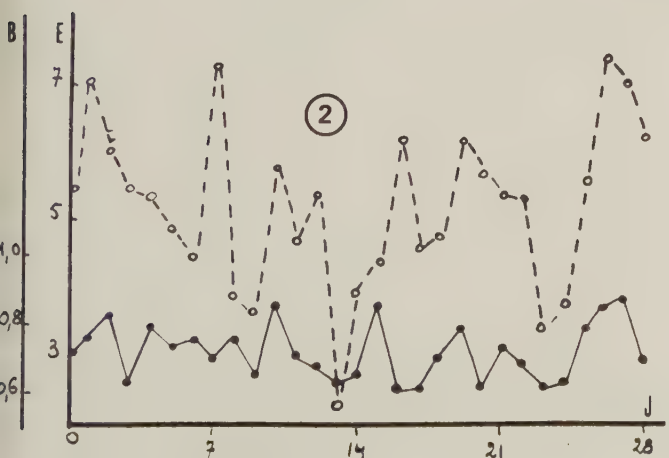
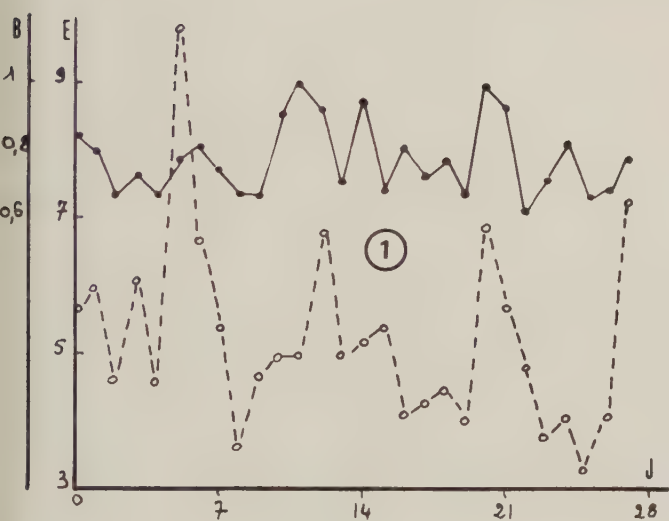


FIGURE 8 — Pourcentage de granulocytes basophiles (●—●) et éosinophiles (○---○) chez l'homme pendant une période de 4 semaines.

B = Nombre de basophiles pour 100 leucocytes
E = Nombre d'éosinophiles pour 100 leucocytes
J = Jours.

On peut tenter de comparer de façon plus précise l'amplitude des modifications chez la femme et chez l'homme par l'étude des coefficients de variation, c'est-à-dire du quotient (multiplié par 100) de l'écart-type, calculé sur l'ensemble des examens quotidiens, par le moyen - terme arithmétique de ces résultats, ceci pour chaque individu examiné. Les moyennes des coefficients de variation peuvent être ensuite analysés selon STUDENT-FISHER (différence significative " t " et probabilité " P "), en tenant compte du fait que la taille des deux populations examinées est très différente.

Certes, l'allure générale des graphiques permet presque de prévoir la conclusion de l'analyse statistique qui, pour cette raison, a été limitée aux seuls résultats exprimés en valeur absolue.

Les coefficients de variation ($\pm$ erreur standard) sont les suivants :

Granulocytes basophiles :

Femmes : $15,44 \pm 0,689$

Hommes : $13,68 \pm 1,928$

La différence n'est pas statistiquement significative, P étant supérieur à 0,30.

Granulocytes éosinophiles :

Femmes : $30,36 \pm 1,743$

Hommes : $29,08 \pm 4,235$

La différence n'est pas statistiquement significative, P étant supérieur à 0,70.

*
* * *

En conclusion, cette étude préliminaire des granulocytes basophiles et éosinophiles du sang circulant au cours des cycles menstruels chez la femme et pendant une période de durée identique chez l'homme montre qu'il n'existe pas de différence suffisamment importante pour être significative. Les fluctuations sont parfois très marquées, mais elles échappent à toute systématisation.

L'étude des éventuelles corrélations avec l'iode hormonal sérique nécessitait un choix : tenant compte de ce que certains auteurs (31, 168) pensent qu'il existe tout de même des modifications du nombre des granulocytes basophiles et éosinophiles pendant le cycle menstruel, nous avons jugé plus prudent, au cours de l'étude suivante, de n'examiner comme population féminine que des femmes ménopausées.

*
* * *

CHAPITRE IV

CORRELATIONS ENTRE L'IODE HORMONAL SERIQUE ET LE NOMBRE DES GRANULOCYTES BASOPHILES ET EOSINOPHILES SANGUINS

1.- TRAVAUX ANTÉRIEURS

En 1959, LEPRAT (112) déplorait qu'aucune étude systématique n'ait été entreprise concernant les relations entre les leucocytes et le dysfonctionnement thyroïdien chez l'Homme.

A cette époque, la plupart des résultats rapportaient des observations fortuites, effectuées parfois sur un nombre réduit de sujets. Ils étaient par ailleurs souvent obtenus par des examens de frottis sanguins ou en ayant recours à des méthodes de numération directe peu satisfaisantes et faisaient rarement l'objet d'une étude statistique.

JACKSON avait ainsi avancé en 1931 (100) que le leucogramme restait dans les limites de la normale. Il fallut pratiquement attendre vingt ans pour qu'ASCHKENASY (11) rapportât d'autres résultats de formules leucocytaires plus précises, effectuées chez des malades porteurs de goitre exophtalmique, objectivant une éosinophilie modérée chez 4 sujets sur 25. En 1960, BRAUNSTEINER et coll. (39), utilisant une méthode de numération directe, arrivaient à des conclusions identiques. Par contre, HERNBERG et LAMBERG (93) insistaient sur l'éosinopénie qui accompagne les thyrotoxicoses sévères.

Les études relatives aux éosinophiles dans le myxœdème étaient aussi réduites : elles conduisaient à des chiffres très divers : normaux, mais parfois aussi diminués dans 25 à 40 pour 100 des cas suivant les auteurs (64, 83).

Les travaux portant sur les granulocytes basophiles étaient beaucoup plus concordants dans leurs conclusions. Ils affirmaient l'existence d'une diminution du nombre de ces cellules dans presque tous les cas d'hyperthyroïdie (38, 39, 40, 41, 51, 98, 99, 122, 167, 169) et une élévation dans les myxœdèmes (38, 39, 40, 41, 51, 98, 99, 122, 167), mais les qualificatifs appliqués à ces augmentations variaient, selon les auteurs, de « modérées » à « importantes » ; cependant, THONNARD - NEUMANN (169) observait chez certains hypothyroïdiens des chiffres bas de basophiles circulants.

2.— RECHERCHES PERSONNELLES

Effectuées entre 1968 et 1971, elles ont porté sur des malades adressés au laboratoire pour une exploration thyroïdienne à la suite d'un examen clinique pouvant laisser supposer

l'existence d'une dysthyroïdie. Ces sujets comportent 221 hommes, qui ont été tous retenus, et 220 femmes ménopausées, les femmes réglées ayant été éliminées pour les raisons données dans le chapitre précédent. La population examinée comprend donc au total 441 sujets.

Les examens biologiques ont été réalisés sur du sang prélevé dans la matinée. Ils ont comporté une détermination de l'iode hormonal sérique et les examens hématologiques habituels (leucocytes totaux, basophiles et éosinophiles). Certes, on ne peut considérer que l'iodémie hormonale traduise de façon parfaite le fonctionnement thyroïdien mais nous avons vu que les discordances sont en réalité exceptionnelles. Notre but était de connaître si les examens hématologiques donnaient des résultats suffisamment probants pour pouvoir être généralisés, parallèlement à l'iode hormonal sérique et aux autres épreuves biologiques classiques, pour le diagnostic des affections thyroïdiennes.

L'ensemble des résultats obtenus a été soumis à une analyse statistique en deux temps, groupant les données de différentes façons :

— suivant l'iodémie hormonale

Notre expérimentation antérieure portant sur plusieurs milliers de sujets nous avait permis de fixer pour les hypothyroïdies des valeurs inférieures à 3,6 microgrammes pour 100 ml de sérum et pour les hyperthyroïdies des valeurs supérieures à 7 microgrammes, les résultats compris entre ces deux extrêmes étant considérés comme normaux. Nous avons donc défini trois classes : hyperiodémies, hypoiodémies et iodémies normales.

— suivant le sexe des malades

Les analyses statistiques ont été faites séparément pour les hommes et les femmes ménopausées et pour les trois classes d'iodémies. Nous avons ensuite regroupé, pour la détermination des coefficients de corrélation, l'ensemble des hommes, l'ensemble des femmes ménopausées et enfin la totalité des 441 sujets.

— suivant le paramètre hématologique

Les résultats des numérations des granulocytes basophiles et éosinophiles ont été exprimés en valeur absolue et en valeur relative, les corrélations entre les éventuelles fluctuations numériques des deux catégories de granulocytes et des leucocytes totaux pouvant être indécélables ou significativement positives ou négatives.

L'analyse statistique des résultats a été effectuée en deux temps, comme nous l'avons dit plus haut :

Comparaison des moyennes des résultats hématologiques dans les diverses classes d'iodémies

Nous avons calculé la différence significative " t " et la probabilité " P ". Pour cette dernière, nous avons cru nécessaire de ne pas nous borner à indiquer dans les tableaux s'il s'agissait ou non d'une signification statistique avec le seuil habituel de P inférieur à 0,05 mais de préciser le degré de cette signification.

Etude des coefficients de corrélation " r "

Les deux variables entre lesquelles il a été recherché une liaison ont été d'une part le taux d'iodémie hormonale sérique et, d'autre part, la représentation numérique sanguine des granulocytes basophiles ou éosinophiles. Les valeurs du coefficient " r " n'ayant d'intérêt qu'en fonction de " P ", ces deux informations figurent dans tous les tableaux.

3.- RÉSULTATS

A.- GRANULOCYTES BASOPHILES

a.- Test "t" de STUDENT-FISHER sur la moyenne des résultats hématologiques

L'ensemble des résultats est consigné dans les tableaux N° 6, 7 et 8.

T A B L E A U N° 6

GRANULOCYTES BASOPHILES SANGUINS (G.B.S.)
SUIVANT LES CLASSES D'IODÉMIE HORMONALE

H : hommes F : femmes ménopausées T : totalité des sujets
V.A. : valeur absolue des G.B.S. (nombre d'éléments par microlitre de sang)
V.R. : valeur relative des G.B.S. (nombre d'éléments pour 100 leucocytes)

Classes d'iodémies	Sexe	Nombre de cas	G.B.S. ± erreur standard	
			V.A.	V.R.
Hyperiodémies	H	14	20,64 ± 3,55	0,315 ± 0,04
	F	30	17,33 ± 1,91	0,337 ± 0,03
	T	44	18,39 ± 1,72	0,330 ± 0,03
Hypoiodémies	H	74	49,20 ± 3,74	0,765 ± 0,06
	F	72	35,60 ± 1,98	0,640 ± 0,04
	T	146	42,49 ± 2,20	0,703 ± 0,03
Iodémies normales	H	133	38,39 ± 1,59	0,582 ± 0,02
	F	118	34,44 ± 2,16	0,577 ± 0,03
	T	251	36,53 ± 1,32	0,580 ± 0,02

T A B L E A U N° 7

PROBABILITÉ "P" DE LA DIFFÉRENCE SIGNIFICATIVE "t" (+ : positive; - : négative)
POUR LE NOMBRE DE GRANULOCYTES BASOPHILES PAR MICROLITRE DE SANG (valeur absolue)
ENTRE LES CLASSES D'IODÉMIES

H : hommes F : femmes ménopausées T : totalité des sujets

Différence significative entre :	Sexe	Sens de "t"	Probabilité "P"
Hyperiodémies et Hypoiodémies	H	-	< 0,005
	F	-	< 0,001
	T	-	< 0,001
Hyperiodémies et Iodémies normales	H	-	< 0,001
	F	-	< 0,001
	T	-	< 0,001
Hypoiodémies et Iodémies normales	H	+	< 0,005
	F	+	> 0,70
	T	+	< 0,02

T A B L E A U N° 8

PROBABILITÉ "P" DE LA DIFFÉRENCE SIGNIFICATIVE "t" (+ : positive; – : négative)
POUR LE NOMBRE DE GRANULOCYTES BASOPHILES POUR 100 LEUCOCYTES TOTAUX (valeur relative)
ENTRE LES CLASSES D'IODÉMIES

H : hommes F : femmes ménopausées T : totalité des sujets

Différence significative entre :	Sexe	Sens de "t"	Probabilité "P"
Hyperiodémies et hypoiodémies	H	—	< 0,001
	F	—	< 0,001
	T	—	< 0,001
Hyperiodémies et Iodémies normales	H	—	< 0,001
	F	—	< 0,005
	T	—	< 0,001
Hypoiodémies et Iodémies normales	H	+	< 0,001
	F	+	> 0,20
	T	+	< 0,005

Discussion

Valeur absolue (tableaux 6 et 7)

Les résultats hématologiques correspondant aux iodémies normales sont compris entre ceux des hyperiodémies et des hypoiodémies : les hyperiodémies s'accompagnent d'un nombre faible de basophiles sanguins et les hypoiodémies d'un taux élevé. La probabilité (tableau 7) est excellente quand on compare les hyperiodémies aux hypoiodémies et iodémies normales mais la confrontation des hypoiodémies et des iodémies normales ne conduit à une valeur statistiquement significative que pour les hommes.

Valeur relative (tableaux 6 et 8)

Les fluctuations du nombre des leucocytes totaux suivant les résultats de l'iodémie ont fait l'objet d'une analyse statistique que nous ne rapporterons pas ici : non systématisées et peu marquées, elles ne modifient pas, pour les valeurs relatives, les conclusions formulées pour les valeurs absolues.

b.- Coefficients de corrélation "r"

Etudiés pour connaître leurs éventuelles possibilités d'utilisation en biologie clinique, ils font l'objet du tableau N° 9.

TABLEAU N° 9

**CORRÉLATION ENTRE L'IODE HORMONAL SÉRIQUE
ET LE NOMBRE DE GRANULOCYTES BASOPHILES SANGUINS**

V.A. : valeur absolue (nombre d'éléments par microlitre de sang)

V.R. : valeur relative (nombre d'éléments pour 100 leucocytes)

Sexe	Cas examinés	Nombre de cas	Paramètre hématologique (V.A. ou V.R.)	r	Probabilité "p"
HOMMES	TOTALITÉ	221	V.A. V.R.	– 0,374 – 0,364	< 0,001 < 0,001
	Hyperiodémies	14	V.A. V.R.	– 0,536 – 0,651	< 0,05 < 0,05
	Hypiodémies	74	V.A. V.R.	– 0,172 – 0,205	> 0,05 > 0,05
	Iodémies normales	133	V.A. V.R.	– 0,415 – 0,173	< 0,001 < 0,05
FEMMES MÉNOPAUSÉES	TOTALITÉ	220	V.A. V.R.	– 0,257 – 0,255	< 0,001 < 0,001
	Hyperiodémies	30	V.A. V.R.	+ 0,094 + 0,288	> 0,05 > 0,05
	Hypiodémies	72	V.A. V.R.	– 0,223 – 0,104	> 0,05 > 0,05
	Iodémies normales	118	V.A. V.R.	+ 0,050 – 0,016	> 0,05 > 0,05
ENSEMBLE DES SUJETS	TOTALITÉ	441	V.A. V.R.	– 0,319 – 0,299	< 0,001 < 0,001
	Hyperiodémies	44	V.A. V.R.	– 0,015 + 0,010	> 0,05 > 0,05
	Hypiodémies	146	V.A. V.R.	– 0,185 – 0,167	< 0,05 < 0,05
	Iodémies normales	251	V.A. V.R.	– 0,147 – 0,081	< 0,05 > 0,05

Discussion

L'examen des résultats met en évidence les faits suivants :

- Toutes les corrélations significatives obtenues sont négatives; pour l'ensemble de la population étudiée, la valeur de " r " est voisine de $-0,3$.
- Chez les hommes, la corrélation pour les hyperiodémies est satisfaisante malgré le nombre peu élevé de cas (14 malades). Elle existe également pour les iodémies normales mais n'est pas significative pour les hypoiodémies.
- Chez les femmes ménopausées, on ne retrouve aucune corrélation statistiquement significative pour chacune des trois classes d'iodémies mais le regroupement des résultats fait apparaître la liaison.
- Pour la totalité des hommes (221), des femmes ménopausées (220) et pour l'ensemble des sujets (441), la corrélation négative est hautement significative tant en valeur absolue qu'en valeur relative.

Ces faits étant dégagés, il faut apporter une restriction à la signification de " r " pour les iodémies qui ne sont pas normales car le calcul est effectué sur des résultats dont la précision ne peut être, pour des raisons purement techniques, toujours satisfaisante. Ainsi, dans les hypoiodémies, les valeurs trouvées inférieures à 0,5 microgramme ont été considérées dans les calculs comme égales à ce chiffre mais elles lui sont en réalité inférieures, ceci dans des proportions qu'il est impossible de préciser. A l'inverse, dans les hyperiodémies, alors que le résultat biochimique est précis, celui du dénombrement des basophiles, qui donne des valeurs très faibles, est fatalement grevé d'une certaine erreur.

Par ailleurs, nous pensons qu'il convient d'être sévère dans l'appréciation pratique des coefficients " r ". Il est certes incontestable qu'il existe une corrélation négative entre l'iodémie hormonale sanguine et le nombre des basophiles sanguins circulants, le degré de signification étant inférieur à 0,001 pour la totalité des hommes, des femmes ménopausées et pour l'ensemble des sujets; cependant, l'examen des valeurs de " r " montre que celles-ci sont comprises entre 0,255 et 0,374, et non voisines de l'unité, ce qu'il faudrait exiger pour parler d'une corrélation utilisable en biologie clinique.

En conclusion, il ressort de cette expérimentation portant sur 441 individus, c'est-à-dire une population relativement importante, que les déterminations du nombre des granulocytes basophiles sanguins donnent, dans l'exploration thyroïdienne, des résultats qui peuvent être utiles dans la constitution d'un dossier de biologie clinique des malades car ils apportent un élément complémentaire d'information. Ils sont cependant loin d'être décisifs et, contrairement à ce qu'avancent BRAUNSTEINER et coll. (39), nous pensons qu'on n'a pas le droit d'exclure une hyperthyroïdie sur un nombre normal ou élevé de basophiles ni un myxœdème sur un taux abaissé de ces cellules.

B.- GRANULOCYTES ÉOSINOPHILES

a.- Test "t" sur la moyenne des résultats hématologiques

Les résultats sont consignés dans les tableaux N° 10, 11 et 12.

T A B L E A U N° 10

GRANULOCYTES ÉOSINOPHILES SANGUINS (G.E.S.)
SUIVANT LES CLASSES D'IODÉMIE HORMONALE

H : *hommes* F : *femmes ménopausées* T : *totalité des sujets*
V.A. : *valeur absolue des G.E.S. (nombre d'éléments par microlitre de sang)*
V.R. : *valeur relative des G.E.S. (nombre d'éléments pour 100 leucocytes)*

Classes d'iodémies	Sexe	Nombre de cas	G.E.S. ± erreur standard	
			V.A.	V.R.
Hyperiodémies	H	14	216,4 ± 32,6	3,73 ± 0,62
	F	30	200,9 ± 40,7	3,83 ± 0,68
	T	44	205,9 ± 29,4	3,80 ± 0,50
Hypoiodémies	H	74	242,3 ± 18,4	3,70 ± 0,28
	F	72	198,2 ± 24,5	3,41 ± 0,35
	T	146	220,5 ± 15,4	3,56 ± 0,22
Iodémies normales	H	133	208,6 ± 12,6	3,21 ± 0,18
	F	118	201,5 ± 20,9	3,43 ± 0,38
	T	251	205,3 ± 11,9	3,31 ± 0,20

T A B L E A U N° 11

PROBABILITÉ "P" DE LA DIFFÉRENCE SIGNIFICATIVE "t" (+ : positive; – : négative)
POUR LE NOMBRE DE GRANULOCYTES ÉOSINOPHILES PAR MICROLITRE DE SANG (valeur absolue)
ENTRE LES CLASSES D'IODÉMIES

H : *hommes* F : *femmes ménopausées* T : *totalité des sujets*

Différence significative entre :	Sexe	Sens de "t"	Probabilité "P"
Hyperiodémies et Hypoiodémies	H	–	> 0,05
	F	+	> 0,95
	T	–	> 0,60
Hyperiodémies et Iodémies normales	H	+	> 0,80
	F	–	> 0,98
	T	+	> 0,98
Hypoiodémies et Iodémies normales	H	+	> 0,10
	F	–	> 0,90
	T	+	> 0,40

T A B L E A U N° 12

PROBABILITÉ "P" DE LA DIFFÉRENCE SIGNIFICATIVE "t" (+ : positive; – : négative)
POUR LE NOMBRE DE GRANULOCYTES ÉOSINOPHILES
POUR 100 LEUCOCYTES TOTAUX (valeur relative)
ENTRE LES CLASSES D'IODÉMIES

H : hommes F : femmes ménopausées T : totalité des sujets

Différence significative entre :	Sexe	Sens de "t"	Probabilité "P"
Hyperiodémies et Hypoiodémies	H F T	+ + +	> 0,95 > 0,80 > 0,60
Hyperiodémies et Iodémies normales	H F T	+ + +	> 0,30 > 0,60 > 0,40
Hypoiodémies et Iodémies normales	H F T	+ – +	> 0,10 > 0,975 > 0,40

Discussion

Une analyse séparée des résultats en valeurs absolue et relative est inutile. Le fait qui retient l'attention est surtout la modicité des fluctuations pour les trois classes d'iodémies, qui se traduit à l'analyse statistique par une absence complète de signification.

Ici, contrairement à ce qui avait été observé pour les granulocytes basophiles, les résultats obtenus chez les sujets présentant une iodémie normale ne se situent même plus entre deux extrêmes, correspondant aux hyperiodémies et hypoiodémies.

b.- Coefficients de corrélation

Les résultats de l'analyse statistique sont réunis dans le tableau N° 13.

TABLEAU N° 13

**CORRÉLATION ENTRE L'IODE HORMONAL SÉRIQUE
ET LE NOMBRE DE GRANULOCYTES ÉOSINOPHILES SANGUINS**

V.A. : valeur absolue (nombre d'éléments par microlitre de sang)

V.R. : valeur relative (nombre d'éléments pour 100 leucocytes).

Sexe	Cas examinés	Nombre de cas	Paramètre hématologique (V.A. ou V.R.)	r	Probabilité "p"
HOMMES	TOTALITÉ	221	V.A. V.R.	– 0,077 – 0,007	> 0,05 > 0,05
	Hyperiodémies	14	V.A. V.R.	– 0,051 – 0,001	> 0,05 > 0,05
	Hypiodémies	74	V.A. V.R.	+ 0,130 + 0,066	> 0,05 > 0,05
	Iodémies normales	133	V.A. V.R.	– 0,189 – 0,005	< 0,05 > 0,05
FEMMES MÉNOPAUSÉES	TOTALITÉ	220	V.A. V.R.	– 0,026 – 0,018	> 0,05 > 0,05
	Hyperiodémies	30	V.A. V.R.	– 0,090 + 0,022	> 0,05 > 0,05
	Hypiodémies	72	V.A. V.R.	– 0,243 – 0,204	< 0,05 > 0,05
	Iodémies normales	118	V.A. V.R.	+ 0,043 + 0,0006	> 0,05 > 0,05
ENSEMBLE DES SUJETS	TOTALITÉ	441	V.A. V.R.	– 0,048 + 0,010	> 0,05 > 0,05
	Hyperiodémies	44	V.A. V.R.	– 0,083 + 0,017	> 0,05 > 0,05
	Hypiodémies	146	V.A. V.R.	– 0,082 – 0,081	> 0,05 > 0,05
	Iodémies normales	251	V.A. V.R.	– 0,040 + 0,008	> 0,05 > 0,05

Discussion

Dans la presque totalité des cas, la probabilité " P " est très supérieure à 0,05, avec des coefficients " r " très faibles et de signe variable. Les deux seules valeurs significatives observées ne le sont que faiblement et nous pensons, après l'étude de ces 441 malades, que l'examen des granulocytes éosinophiles sanguins n'apporte aucun résultat intéressant dans l'exploration biologique de la thyroïde.

*
* * *

La double enquête dont nous venons de relater les résultats conduisait naturellement à rechercher si l'expérimentation animale corroborait ou non ses conclusions. C'est ce que nous allons examiner dans les chapitres suivants, sans oublier que les régulations hormonales peuvent varier notablement selon les espèces.

*
* * *

CHAPITRE V

MODIFICATIONS HEMATOLOGIQUES CONSECUTIVES A LA RADIOTHYROÏDECTOMIE CHEZ LE LAPIN

1.- TRAVAUX ANTÉRIEURS

La plupart des études concernant les modifications leucocytaires consécutives à la thyroïdectomie sont assez anciennes; elles intéressent en général le Cobaye ou le Rat et les variations cytologiques, étudiées sur des frottis sanguins, ne font jamais mention des granulocytes basophiles.

Pour de nombreux auteurs (17, 87, 159, 161, 162), l'ablation de la thyroïde ne modifie ni le taux global des globules blancs, ni la formule leucocytaire. Cependant, CRAFTS (58) observe une augmentation des neutrophiles, alors que les éosinophiles ne varient pas.

Reprenant ces expériences, ASCHKENASY (15) précise que, selon les conditions alimentaires et les souches d'animaux utilisées, on peut constater une inhibition plus ou moins globale de la leucopoïèse intéressant aussi, au moins temporairement, les granulocytes éosinophiles, et qui débute quelques jours après l'intervention. Cette éosinopénie est également retrouvée par HOLBAN et coll. (95).

2.- RAISONS DE L'ÉTUDE

L'absence totale de renseignements concernant les granulocytes basophiles et la diversité des résultats obtenus sur les granulocytes éosinophiles nous ont conduite à rechercher quel pouvait être, chez le Lapin, l'effet de la thyroïdectomie sur ces deux variétés de cellules.

Nous avons retenu le Lapin pour toute notre expérimentation parce que, parmi les animaux de laboratoire, c'est celui qui possède le plus de polynucléaires basophiles circulants et que les techniques de numération des basophiles et des éosinophiles ont été mises au point spécifiquement pour le sang de cet animal.

A la thyroïdectomie chirurgicale, nous avons préféré l'emploi d'iode radio-actif pour deux raisons principales : facilité d'exécution et assurance d'une thyroïdectomie totale avec destruction simultanée de thyroïdes accessoires éventuelles.

3.- RECHERCHES PERSONNELLES

Nous devons commencer par souligner l'importance des modalités de prélèvement dans les examens hématologiques pratiqués chez le Lapin.

Chez tous les animaux, en effet, des modifications leucocytaires du sang périphérique peuvent être occasionnées par la peur, le froid (101, 103, 172), la chaleur, la lumière (108), le bruit (29, 44, 76), les changements de régime alimentaire (142).

En outre, nous avons constaté, en accord avec GRAF et coll. (89) que, dans cette espèce, une grande variabilité du nombre des leucocytes pouvait s'observer d'une goutte de sang à l'autre lorsque celui-ci s'écoule lentement, goutte à goutte, d'un point de piqûre.

En conséquence, pour l'ensemble de notre travail, nous avons toujours respecté, outre un horaire fixe de prélèvements, les modalités suivantes : le lapin, retiré de sa cage à l'animalerie, est placé dans une boîte de bois ne dégageant que la tête et mis au repos durant une heure dans une pièce normalement éclairée, loin d'une source de chaleur ou d'une fenêtre ouverte; les prélèvements étant effectués sur l'artère centrale de l'oreille, à l'aide d'un vaccinostyle, le sang destiné aux examens n'est recueilli que lorsque quelques gouttes se sont écoulées de façon pratiquement continue; enfin, en cas de prélèvements multiples, les piqûres sont évidemment pratiquées en des points différents échelonnés en partant de l'extrémité distale de l'oreille vers sa base.

A.- EXPÉRIMENTATION

Tous les animaux utilisés dans cette étude, comme dans la suite de notre travail, sont des lapins albinos, mâles, dont le poids est compris entre 3 et 3,5 kilogrammes.

Chacun des 22 lapins représentant son propre témoin, nous avons dans un premier temps évalué les paramètres biologiques suivants :

- leucocytes totaux,
- granulocytes basophiles,
- granulocytes éosinophiles,
- iode hormonal.

Etant donné l'impossibilité matérielle d'effectuer chez les 22 animaux l'ensemble des prélèvements sur une seule journée, nous avons réparti le travail sur trois jours consécutifs.

Le surlendemain du début de l'expérimentation, tous les animaux ont reçu, en injection sous-cutanée, une dose individuelle de 1,5 millicurie d'iode radio-actif sous forme d'iodure de sodium en solution aqueuse et sous un volume de 1,5 ml.

Après 72 heures d'isolement, toutes précautions étant prises quant à l'élimination des urines radio-actives, les lapins sont replacés à l'animalerie où ils sont soumis à un régime alimentaire absolument identique à celui qu'ils avaient pendant la quinzaine précédant les premiers prélèvements.

De nouvelles déterminations hématologiques sont effectuées à deux reprises : 15 jours et 70 jours après l'injection. En fait, pour la raison citée plus haut, les derniers prélèvements ont été répartis sur 3 jours : selon les animaux, ils sont donc intervenus 69, 70 ou 71 jours après l'injection. Comme il nous semblait qu'un décalage de 72 heures sur un temps de 15 jours risquait d'entraîner des mécomptes, nous avons choisi d'effectuer les prélèvements sur 12 lapins seulement, pris au hasard, mais le même jour.

L'iode hormonal n'a été dosé qu'au soixante-dixième jour, la mise en circulation de produits iodés d'origine thyroïdienne pouvant apporter, peu de temps après l'administration d'iode radio-actif, des perturbations dans cette évaluation.

B.- RÉSULTATS

Dosages d'iode

Au début de l'expérimentation, les iodémies hormonales évaluées chez les 22 lapins sont comprises entre 0,5 et 4,4 microgrammes pour 100 ml, avec une moyenne de 1,9.

Soixante-dix jours après l'injection d'iode radio-actif, elles sont toujours inférieures à 0,5 microgramme; toutefois, un animal fait exception avec un chiffre de 0,8 microgramme pour 100 ml.

Numérations

Les résultats sont groupés dans le tableau N° 14.

T A B L E A U N° 14

MODIFICATIONS LEUCOCYTAIRES
EXPRIMÉES EN POURCENTAGE D'AUGMENTATION (+) OU DE DIMINUTION (–)
APRÈS INJECTION D'IODE RADIO-ACTIF (I.R.A.)

P : probabilité

Leucocytes étudiés	15 jours après I.R.A. (12 animaux)		69 à 71 jours après I.R.A. (22 animaux)	
	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P
Leucocytes totaux	+ 11,7	> 0,20	– 0,3	> 0,975
Basophiles	+ 167,5	< 0,005	+ 38,5	> 0,20
Éosinophiles	+ 89,2	> 0,20	+ 42,5	> 0,10

Parmi les modifications enregistrées 15 jours après l'administration d'iode radio-actif, seule l'augmentation du nombre des granulocytes basophiles est statistiquement significative. Il existe certes un accroissement important du nombre des éosinophiles mais celui-ci est dû principalement à la réaction d'un seul sujet chez lequel l'augmentation dépasse 800 pour 100, les autres réponses étant soit positives, soit négatives mais de faible amplitude. La variation n'est pas significative.

Les examens effectués 70 jours après l'injection d'iode radio-actif ne permettent pas de déceler un effet quelconque sur les cellules étudiées.

4.- DISCUSSION DES RÉSULTATS

Dans les suites immédiates, il existe une augmentation du nombre des basophiles circulants, mais elle ne semble pas liée à l'hypothyroïdie elle-même puisqu'elle n'est plus sensible plusieurs semaines plus tard. Elle pourrait être due à l'action spécifique d'un composé iodé thyroïdien mis en circulation à la suite de la destruction de la glande mais aucun argument ne nous permet de retenir cette hypothèse.

On peut également supposer que cette perturbation temporaire traduit un état d'instabilité entre l'euthyroïdie et l'hypothyroïdie et qu'elle disparaît quand un nouvel équilibre est atteint, quel que soit d'ailleurs le niveau de ce nouvel équilibre.

Il est aussi possible que l'augmentation du nombre des basophiles sanguins soit en relation directe avec l'élévation du taux de thyrostimuline hypophysaire circulante consécutive à la radiothyroïdectomie mais, pour expliquer le caractère transitoire de cette perturbation, il faudrait admettre soit que cette hypersécrétion se tarit en soixante-dix jours, soit que la réponse des récepteurs hématopoïétiques aux taux élevés de T.S.H. circulante s'atténue avec le temps. Or, le phénomène d'épuisement succédant à une phase d'hypersécrétion est bien connu pour les cellules β du pancréas mais, à notre connaissance, il n'a jamais été affirmé pour les cellules thyrotropes hypophysaires; ce fait demanderait à être contrôlé par des dosages de T.S.H. au cours d'expériences de radiothyroïdectomie chez le Lapin.

Nous sommes plutôt portée à penser que ce sont les récepteurs hématologiques qui deviennent moins sensibles à la sécrétion de T.S.H. comme c'est le cas pour l'A.C.T.H. (15).

Quoi qu'il en soit, la radiothyroïdectomie est, à long terme, sans effets sur le nombre des granulocytes basophiles et éosinophiles circulants.

On s'explique mal ce fait si l'on s'en rapporte aux travaux de différents auteurs (11, 20, 118) ayant montré que l'hypothyroïdie ou la thyroïdectomie entraîne une diminution de l'activité hématopoïétique de la moelle. L'intervention d'un phénomène compensateur assurant l'homéostasie n'est donc pas à rejeter à priori.

Ce mécanisme régulateur pourrait agir en modifiant la répartition des cellules entre le sang et les réserves : on sait en effet que, pour les granulocytes neutrophiles, le nombre de cellules retenues en margination vasculaire est égal ou légèrement supérieur à celui des éléments circulants; on peut supposer qu'il en est de même pour les basophiles et les éosinophiles, mais l'efficacité de cette régulation ne saurait être que transitoire.

Un autre mécanisme compensateur pourrait consister en une hémococoncentration consécutive à la thyroïdectomie, qui masquerait les effets de la diminution de l'activité hématopoïétique médullaire. Les travaux de CACHERA et coll. (45, 46) avaient montré qu'il existait une diminution de l'eau extracellulaire dans l'hypothyroïdie et une augmentation dans le cas contraire, mais cette notion est actuellement remise en question (50).

Quelle qu'en soit l'explication, nous retiendrons de cette expérimentation, qu'à long terme, la radiothyroïdectomie n'entraîne, chez le Lapin, aucune perturbation apparente dans le nombre des granulocytes basophiles et éosinophiles circulants.

*

* *

CHAPITRE VI

EFFETS HEMATOLOGIQUES DE L'ADMINISTRATION DE THYROXINE CHEZ LE LAPIN

1.- TRAVAUX ANTÉRIEURS

Nous ne mentionnerons ici que les résultats des travaux relatifs à l'administration de thyroxine (T4), à l'exclusion de composés tels que poudre de thyroïde ou extraits thyroïdiens, dont la composition peut varier considérablement selon l'origine.

Les observations les plus anciennes (87, 88) portant sur les modifications leucocytaires dues à la thyroxine ne font pas mention d'éventuelles variations de granulocytes éosinophiles ou basophiles et il ne faut pas en être surpris : étant donné l'absence de méthodes valables de numération directe, il aurait fallu que les effets soient très accusés pour qu'on les remarque sur les seuls frottis sanguins.

Des modifications ont pourtant été enregistrées au cours d'expérimentations plus récentes. Une injection unique de T4 se traduit chez l'Homme par une diminution du nombre des éosinophiles (47) et des basophiles (51); l'éosinopénie se retrouve également chez le Rat (15).

Les effets d'un traitement prolongé semblent le plus souvent opposés à ceux d'une dose unique, du moins en ce qui concerne les granulocytes éosinophiles. Pour ASCHKENASY (15), la thyroxine stimule l'éosinopoïèse chez le Rat lorsqu'elle est administrée longtemps et chez des animaux présentant une éosinopénie durable, obtenue expérimentalement par inanition protéique, ou temporaire comme celle qu'il constate précocement après thyroïdectomie (16). Une action identique des injections répétées a été rapportée par COMSA (56) chez des Cobayes normaux, mais, chez le Rat, HOLBAN observe un effet inverse (95).

Les rares travaux relatifs aux basophiles conduisent à des conclusions parfois contradictoires. Alors que par administration prolongée de T4 plusieurs auteurs provoquent une basopénie, tant chez l'Homme (49, 51, 98) que chez le Lapin (51), BOSEILA obtient chez cet animal une réaction opposée (35); il rapporte ce phénomène à une inhibition de la sécrétion de thyrostimuline hypophysaire (T.S.H.), ce qu'il confirme par une étude portant sur 5 hommes normaux traités à la D-thyroxine (36). Pour SHIBATA, par contre, ce dernier composé serait dépourvu d'effet sur le nombre des granulocytes circulants dans l'espèce humaine (160).

2.- RAISONS DE L'ÉTUDE

Notre but était de savoir si l'imprégnation prolongée en hormone thyroïdienne reproduisait chez le Lapin les modifications leucocytaires observées en clinique dans l'hyperthyroïdie, à savoir une diminution du nombre des granulocytes basophiles circulants.

Par ailleurs, bien que l'étude rapportée au chapitre IV n'ait pas montré de corrélation entre fonctionnement thyroïdien et taux des granulocytes éosinophiles, nous gardions toujours présent à l'esprit le fait que, dans une population, ce taux est modifié par de très nombreux facteurs. Aussi avons-nous voulu rechercher si l'administration de thyroxine provoquait une perturbation du nombre des éosinophiles circulants chez des animaux dont l'équilibre leucocytaire sanguin était préalablement connu.

Enfin, il nous a semblé intéressant d'étudier, au cours d'une même expérience, leucocytes totaux, granulocytes basophiles et granulocytes éosinophiles, ce que nous n'avons pas trouvé dans les travaux cités plus haut et dont les résultats contradictoires peuvent s'expliquer par des conditions expérimentales très différentes : espèces animales diverses, doses et durées d'administration inégales, imprécision de certaines méthodes hématologiques.

Il convenait donc de reprendre ce problème dans un travail d'ensemble dont les résultats seraient analysés statistiquement.

3.- RECHERCHES PERSONNELLES

Notre expérimentation comporte deux parties :

- effets hématologiques de l'administration de thyroxine chez l'animal normal,
- effets hématologiques de l'administration de thyroxine chez l'animal radiothyroïdectomisé.

A.- CHEZ L'ANIMAL NORMAL

a.- Administration de fortes doses de thyroxine

- **Nombre de lapins :** 10.
- **Produit administré :** solution de thyroxine synthétique (Roche) au millième, délivrée en ampoules et utilisée soit à cette concentration, soit rediluée au cinquième.
- **Doses et rythme d'administration :** imprégnation progressive réalisée par une série de 7 injections intra-musculaires régulièrement réparties sur 13 jours; les deux premières sont de 100 microgrammes, les cinq autres de 500 microgrammes, sous un volume constant de 0,5 ml.

Pendant toute la durée de l'expérimentation, les animaux reçoivent un régime alimentaire strictement identique à celui de la quinzaine précédente. Le premier jour, c'est-à-dire avant toute injection de thyroxine, les lapins sont soumis à un prélèvement qui fait l'objet des examens sanguins suivants :

- numération des leucocytes totaux
- » des granulocytes basophiles
- » des granulocytes éosinophiles
- évaluation de l'iodémie totale
- » de l'iodémie hormonale.

Ces mêmes examens sont répétés le lendemain de la dernière injection de thyroxine.

— Résultats :

● Trois des animaux étant morts en cours d'expérimentation, les résultats portent sur sept lapins (cette étude sera reprise par la suite avec des doses moins importantes de T4 et sur un plus grand nombre d'animaux).

- Moyenne des valeurs de l'iodémie (en microgrammes pour 100 ml) :

	Avant T4	Après T4
Iodémie totale :	3,2	34,2
Iodémie hormonale	1,7	9,2

- Modifications leucocytaires :

Les résultats consignés dans le tableau N° 15 sont exprimés en pourcentage d'augmentation (+) ou de diminution (—), comparativement aux valeurs de départ.

Leur évidence rend tout commentaire inutile.

T A B L E A U N° 15

MODIFICATIONS LEUCOCYTAIRES,
EXPRIMÉES EN POURCENTAGE D'AUGMENTATION (+) OU DE DIMINUTION (—),
APRÈS INJECTIONS DE FORTES DOSES DE T4 CHEZ DES ANIMAUX NORMAUX

P : *probabilité*

Leucocytes étudiés	Modifications leucocytaires	P
Leucocytes totaux	+ 30,2	> 0,20
Basophiles	+ 55,0	< 0,05
Éosinophiles	— 80,2	< 0,001

b.- Administration de doses modérées de thyroxine

- Nombre d'animaux : 19.
- Produit administré : Thyroxine synthétique (Roche) en solution au cinq millième.
- Dose et rythme d'administration : 7 injections intra-musculaires de 100 microgrammes chacune, régulièrement réparties sur 13 jours.

L'expérimentation a été conduite selon le même protocole que la précédente et a donné lieu aux mêmes investigations biologiques.

— Résultats :

- Tous les animaux ont survécu.
- Iodémies

Comme on pouvait s'y attendre, les iodémies déterminées en fin de traitement sont plus faibles que dans l'expérience précédente; leurs moyennes, exprimées en microgrammes pour 100 ml, ont les valeurs suivantes :

	Avant T4	Après T4
Iodémie totale	4,7	9,2
Iodémie hormonale	2,1	4,4

• Modifications leucocytaires

Les résultats sont résumés dans le tableau N° 16.

Ils montrent que la seule variation significative est une diminution du nombre des granulocytes éosinophiles.

T A B L E A U N° 16
MODIFICATIONS LEUCOCYTAIRES,
EXPRIMÉES EN POURCENTAGE D'AUGMENTATION (+) OU DE DIMINUTION (–),
APRÈS INJECTIONS DE DOSES PLUS MODÉRÉES DE T4 CHEZ DES ANIMAUX NORMAUX

P : probabilité

Leucocytes étudiés	Modifications leucocytaires	P
Leucocytes totaux	– 13,6	> 0,10
Basophiles	– 13,2	> 0,10
Éosinophiles	– 24,8	< 0,01

B.- CHEZ L'ANIMAL RADIOTHYROÏDECTOMISÉ

Deux expérimentations ont été entreprises.

Nous avons d'abord voulu savoir si une surcharge prolongée en thyroxine avait les mêmes conséquences chez l'animal radiothyroïdectomisé et chez l'animal intact.

Dans un second temps, partant de l'idée que les effets d'une injection unique de thyroxine devaient être plus francs chez un animal privé de thyroïde que chez un animal sain, nous avons cherché à observer les effets d'une telle injection chez des animaux préalablement traités par l'iode radio-actif.

a.- Effets de l'administration prolongée de thyroxine

- **Nombre d'animaux :** 11.
- **Produit utilisé :** Thyroxine synthétique (Roche) en solution à 1 pour 1000 et à 1 pour 5000.
- **Modalités de l'administration :** 10 injections intra-musculaires régulièrement réparties sur 19 jours. Les cinq premières sont de 100 microgrammes chacune, les cinq autres de 500 microgrammes.

L'expérimentation a été conduite selon le même protocole opératoire que la précédente.

– **Résultats :**

• Iodémies

Les moyennes des valeurs de l'iodémie, exprimées en microgrammes pour 100 ml, sont :

	Avant T4	Après T4
Iodémie totale	1,7	23,1
Iodémie hormonale	< 0,5	11,5

Nous estimons que les iodémies inférieures à 0,5 microgramme sont déterminées avec trop peu de précision pour qu'un chiffre exact puisse être avancé.

- Modifications leucocytaires
- Les résultats sont regroupés dans le tableau N° 17.
- On voit que les seules variations significatives intéressent les granulocytes éosinophiles.

T A B L E A U N° 17

MODIFICATIONS LEUCOCYTAIRES,
EXPRIMÉES EN POURCENTAGE D'AUGMENTATION (+) OU DE DIMINUTION (–),
APRÈS IMPRÉGNATION PROLONGÉE PAR T4 DE LAPINS PRIVÉS DE THYROÏDE

P : probabilité

Leucocytes étudiés	Modifications leucocytaires	P
Leucocytes totaux	+ 7,1	> 0,60
Basophiles	+ 7,6	> 0,50
Éosinophiles	– 45,9	< 0,02

b.- Effets d'une dose unique de thyroxine

- Nombre de lapins : 10.
- Produit utilisé : Thyroxine synthétique (Roche) en solution à 1 pour 5000.
- Protocole opératoire : Après avoir prélevé le sang destiné aux examens hématologiques habituels, on injecte 100 microgrammes de thyroxine par voie intra-musculaire. Des prélèvements sanguins ultérieurs sont effectués aux temps : 2 heures, 4 heures, 6 heures, 8 heures et 24 heures après l'injection.
- Résultats :

C'est volontairement que nous n'avons pas dosé les iodémies : leur évaluation nécessite en effet une soustraction sanguine relativement importante, susceptible de perturber l'équilibre leucocytaire, comme nous le verrons plus loin, dans le chapitre X. Les modifications hématologiques enregistrées aux différents temps sont rassemblées dans le tableau N° 18.

Il faut attendre huit heures pour observer une variation significative : elle affecte uniquement les granulocytes basophiles, dont le nombre diminue; cette réaction n'est que temporaire puisqu'elle ne se manifeste plus 24 heures après l'injection. Par contre, à ce moment, le nombre des éosinophiles a subi une réduction sensible et significative.

T A B L E A U N° 18
MODIFICATIONS LEUCOCYTAIRES,
EXPRIMÉES EN POURCENTAGE D'AUGMENTATION (+) OU DE DIMINUTION (–),
CONSÉCUTIVES A L'INJECTION D'UNE DOSE UNIQUE DE 100 MICROGRAMMES DE T4
CHEZ LE LAPIN PRIVÉ DE THYROÏDE

P : probabilité

LEUCOCYTES ÉTUDIÉS	T E M P S									
	2 heures		4 heures		6 heures		8 heures		24 heures	
	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P
Leucocytes totaux	+ 2,1	> 0,80	+ 2,7	> 0,70	+ 14,7	> 0,30	+ 9,2	> 0,40	+ 17,4	> 0,20
Basophiles	– 8,5	> 0,30	– 9,0	> 0,80	– 26,5	> 0,10	– 32,9	< 0,02	– 0,5	> 0,95
Éosinophiles	– 7,2	> 0,30	– 12,4	> 0,20	– 22,7	> 0,10	– 18,8	> 0,05	– 32,7	< 0,02

4.- DISCUSSION DES RÉSULTATS

Les deux seules variations du nombre des granulocytes basophiles enregistrées au cours de toute cette expérimentation sont de sens opposé :

- augmentation dans le cas d’une imprégnation prolongée par de fortes doses de thyroxine, mais seulement chez les animaux normaux.
- diminution temporaire chez l’animal privé de thyroïde, 8 heures après une injection unique.

Ces faits demandent à être discutés, et leur trouver un lien commun conduit à émettre des hypothèses.

Nos observations relatives aux effets de l’injection unique de T4 corroborent celles que CAVAZZUTI et coll. (51) avaient faites sur l’Homme. On pourrait être tenté d’en déduire une action leucopéniante directe de la thyroxine sur les granulocytes basophiles. Pourtant, les résultats des expériences de surcharge semblent s’opposer à cette façon de voir. En effet, nous avons remarqué que, chez l’animal normal, l’administration continue de doses modérées de T4 ne diminue pas le nombre des granulocytes basophiles; des surcharges importantes sont également sans effet sur l’animal thyroïdectomisé et elles provoquent même une augmentation de ces cellules chez l’animal intact. On peut donc affirmer que le nombre des basophiles sanguins chez le Lapin n’est pas en relation directe avec le taux d’hormones thyroïdiennes circulantes.

Cette constatation rejoint d’ailleurs celle que nous avons faite en pathologie humaine, selon laquelle les basophiles subissaient bien des perturbations dans les dysthyroïdies mais que, à l’intérieur des classes d’hypoiodémie ou d’hyperiodémie, il n’existait pas toujours de corrélations entre ces perturbations et l’iode hormonal circulant. On peut donc penser que la thyroxine n’a pas d’effet direct sur le nombre des basophiles ou, tout au moins, que T4 ne serait pas le seul facteur agissant sur ces cellules.

BOSEILA (35) avait rapporté les variations numériques de ces cellules aux taux sanguins de thyroïdostimuline hypophysaire, une diminution de ces valeurs entraînant, pour lui, une augmentation du nombre des basophiles. Cette suggestion s'oppose à ce que nous avons observé : en effet, on conçoit mal pourquoi une thyroïdectomie, qui provoque une stimulation hypophysaire, augmenterait le nombre de ces cellules et pourquoi l'injection de T₄, qui réduit la sécrétion de T.S.H., diminuerait aussi les basophiles. Nous pensons, pour notre part, que la T.S.H. tend, au contraire, à augmenter le nombre des cellules circulantes, mais elle n'agirait pas seule, et, à un degré moindre, la thyroxine aurait une action comparable.

Nous allons reprendre les résultats de nos observations pour vérifier qu'ils ne vont pas à l'encontre de cette double hypothèse.

Quinze jours après la thyroïdectomie, la sécrétion thyroïdienne est presque inexistante mais celle de T.S.H. a considérablement augmenté; les taux de basophiles sanguins en font autant. Nous avons discuté par ailleurs les raisons possibles du caractère transitoire de cette augmentation.

Une injection unique de thyroxine n'apporte à l'organisme qu'une quantité d'hormone insuffisante pour provoquer à elle seule une modification leucocytaire mais la sécrétion de T.S.H. est très sensible à cette petite élévation de l'iodémie : elle diminue considérablement, ce qui entraîne une réduction du nombre des basophiles.

Dans les expériences de surcharge, l'imprégnation par de petites doses répétées de T₄ tend à produire deux phénomènes inverses d'amplitude comparable, qui expliquent l'absence de réponse hématologique; lorsqu'il s'agit d'un traitement par de fortes doses chez le Lapin normal, l'iodémie augmente considérablement, le taux sanguin de T.S.H. s'amenuise mais, son niveau antérieur n'étant pas très important, cette diminution, bien que sensible, ne peut imposer son effet sur les basophiles; c'est l'action de T₄ qui domine et le nombre de ces cellules s'accroît; par contre, lorsque ce sont des animaux thyroïdectomisés qui reçoivent de telles doses de T₄, la T.S.H. circulante, dont le niveau antérieur était très élevé, baisse considérablement alors que l'iodémie subit une importante augmentation; on enregistre donc deux réactions de grande amplitude mais dont les effets sur les granulocytes basophiles se neutralisent.

Ces théories ne sont pas contredites par la pathologie humaine si l'on admet, comme nous l'avons fait plus haut, que l'intensité de l'action de la T.S.H. est supérieure à celle de T₄.

On sait que, dans la maladie de BASEDOW, les cellules hypophysaires sécrétant l'hormone thyroïdienne sont inactives, parfois même atrophiées, et que les taux de T.S.H. plasmatique sont constamment abaissés, voire indécélables : on peut donc admettre que ce défaut en T.S.H. est la cause principale du déficit sanguin en basophiles. Dans les myxœdèmes d'origine thyroïdienne, plus que la modicité des valeurs de l'iodémie, c'est l'excès de T.S.H. plasmatique qui impose son action sur les basophiles et leur nombre s'en trouve augmenté. D'après cette hypothèse, les myxœdèmes hypophysaires, par contre, devraient s'accompagner de chiffres bas de basophiles sanguins; ce fait demanderait à être vérifié car il expliquerait alors que si les auteurs s'accordent pour reconnaître une basopénie dans les hyperthyroïdies, ils formulent des conclusions moins franches à propos des hypothyroïdies.

Les observations relatives aux granulocytes éosinophiles posent beaucoup moins de problèmes. En effet, dans toute cette expérimentation, on observe toujours une diminution très significative de leur nombre à la suite d'administration de thyroxine, que ce produit fasse l'objet d'une injection unique ou d'un traitement prolongé; ce phénomène étant plus accentué quand l'iodémie hormonale est plus élevée, il semble exister, chez le Lapin, une relation directe entre thyroxine et nombre d'éosinophiles circulants.

Comme il apparaît, par contre, que le nombre de basophiles sanguins est surtout soumis au taux plasmatique de thyroïdostimuline hypophysaire, nous allons essayer de préciser cette notion dans le chapitre suivant.

C H A P I T R E V I I

EFFETS HEMATOLOGIQUES DE L'ADMINISTRATION DE THYREOSTIMULINE HYPOPHYSAIRE CHEZ LE LAPIN

1.- RAISONS DE L'ÉTUDE

La discussion des résultats du chapitre précédent nous ayant conduite à émettre des hypothèses relatives à l'action de la thyroestimuline hypophysaire (T.S.H.) sur le nombre des granulocytes basophiles circulants, nous avons décidé d'étudier les effets hématologiques de l'administration de cette hormone dans trois circonstances particulières :

1.- Lapins privés de glande thyroïde mais surchargés en thyroxine

Chez ces animaux, dont la sécrétion de T.S.H. a été fortement réduite, sinon supprimée, les résultats obtenus pourront être rattachés aux seuls effets de la T.S.H. exogène puisqu'aucune action en retour sur la sécrétion thyroïdienne n'est à redouter.

2.- Lapins normaux

La réponse enregistrée pourra être rapportée soit à la T.S.H. injectée, soit à l'élévation de l'iodémie hormonale qui en résulte, soit à ces deux facteurs associés.

3.- Lapins normaux surchargés en thyroxine

Le niveau de thyroxine circulante étant maintenu élevé par des injections répétées de T₄, l'augmentation d'iodémie hormonale résultant de l'administration de T.S.H. devrait avoir peu d'action sur les basophiles et on peut espérer dans ces conditions que les éventuelles perturbations hématologiques enregistrées seraient dues principalement à la T.S.H.

Dans chacun des trois cas, nous étudierons au cours de la même expérience les effets immédiats d'une injection unique et nous suivrons sur plusieurs jours les effets cumulatifs de deux doses de T.S.H.

2.- TRAVAUX ANTÉRIEURS

A notre connaissance, peu de travaux ont été consacrés à l'étude des reflets hématologiques de l'administration de thyroestimuline hypophysaire. Pour SIMMS et coll. (162), il

n'existe pas d'action appréciable sur les éléments sanguins du Chien normal; par contre, chez l'Homme, CALTABIANO et coll. (47) provoquent une éosinopénie maximale à la quatrième heure, et CAVAZZUTI et coll. (51) une basopénie surtout marquée à la huitième heure.

3.- RECHERCHES PERSONNELLES

A.- TRAVAUX PRÉLIMINAIRES

Avant d'entreprendre les études dans les trois circonstances indiquées, il fallait préciser un certain nombre de points.

a.- Vérification de l'activité du produit utilisé et détermination de la dose à injecter

La seule préparation de thyroostimuline en notre possession est « constituée par un extrait de lobe antérieur d'hypophyse bovine ayant principalement une action excitante sur la thyroïde ».

Nous devions donc, dans un premier temps, vérifier que cette préparation commerciale, utilisée couramment dans le diagnostic différentiel des hypothyroïdies humaines, était également active chez le Lapin. Des travaux antérieurs (37, 53, 72, 90) avaient permis d'établir chez l'Homme que les augmentations du taux d'iode protéique consécutives à l'injection d'une dose unique de T.S.H. croissaient avec les doses utilisées, que l'effet, débutant au bout de 90 à 120 minutes, atteignait un maximum à la vingt-quatrième heure et qu'il se poursuivait sur quarante-huit heures. En cas d'injections répétées quotidiennement, un effet cumulatif des injections d'hormone s'extériorise le mieux les second et troisième jours.

Nous avons choisi d'éprouver l'activité du produit en étudiant chez le Lapin les variations des iodémies hormonales consécutives à deux injections de T.S.H. commerciale.

Protocole opératoire :

- Nombre d'animaux : 10.
- Dose utilisée : 100 unités H.L. par injection.
- Voie d'administration : intramusculaire.

Immédiatement après avoir subi un prélèvement destiné à évaluer l'iodémie hormonale, les animaux reçoivent une injection de T.S.H.

Cette injection est répétée 24 heures plus tard.

Le lendemain de cette seconde injection, un nouveau prélèvement de sang est effectué, destiné au dosage de l'iode hormonal.

Résultats des iodémies hormonales (en microgrammes pour 100 ml) :

Lapins N°	Iode hormonal avant T.S.H.	Iode hormonal après T.S.H.
1	4,0	6,4
2	2,4	8,0
3	0,5	3,0
4	1,3	6,4
5	2,1	6,5
6	1,3	5,3
7	2,1	4,4
8	1,2	3,6
9	2,8	8,0
10	0,8	2,4

Les moyennes ($\pm$ erreur standard) s'établissent ainsi :

- Avant T.S.H. : 1,85 ($\pm$ 0,336)
- Après T.S.H. : 5,40 ($\pm$ 0,630)

La probabilité P de " t " étant inférieure à 0,001, on peut conclure avec certitude que le produit est actif sur le Lapin à la dose utilisée. Nous avons donc retenu cette dernière pour l'expérimentation envisagée.

b.- Essais d'inactivation du produit

La nature même du produit injecté nous obligeait à introduire des animaux témoins dans les études ultérieures : il ne s'agissait plus en effet d'un produit cristallisé comme la thyroxine mais d'une solution protéique complexe.

Ces animaux témoins devaient donc recevoir une solution protéique semblable mais dépourvue d'activité sur la glande thyroïde. Nous avons cherché à supprimer cette activité par chauffage : les ampoules ont été introduites dans un bain-marie porté progressivement à l'ébullition, cette température étant maintenue quinze minutes; la même opération a été répétée quelques heures plus tard et le produit obtenu a fait l'objet d'un nouvel essai d'activité dans les conditions indiquées ci-dessus.

Résultats des iodémies hormonales (en microgrammes pour 100 ml) :

Lapins N°	Iode hormonal avant T.S.H. inactivée	Iode hormonal après T.S.H. inactivée
1	1,2	1,2
2	2,0	2,4
3	0,8	0,8
4	1,6	1,8
5	2,8	2,6
6	1,6	1,2
7	1,2	1,4
8	2,0	2,2
9	1,6	1,6
10	2,0	2,2

Les moyennes ($\pm$ erreur standard) sont les suivantes :

- Avant T.S.H. inactivée : 1,68 $\pm$ 0,177
- Après T.S.H. inactivée : 1,74 $\pm$ 0,189

La probabilité P de " t " étant supérieure à 0,80, on peut donc être pratiquement assuré que la préparation commerciale chauffée dans les conditions indiquées a perdu la propriété d'élever l'iodémie hormonale des animaux qui la reçoivent.

c.- Choix des horaires de prélèvements

Dans le but d'étudier au cours de la même expérience les effets immédiats d'une injection unique et ceux de deux doses cumulées, nous avons retenu le protocole suivant :

Le premier jour de l'expérimentation, les animaux subissent successivement :

- un prélèvement de sang destiné aux examens hématologiques (leucocytes totaux, basophiles, éosinophiles) et au dosage de l'iode hormonal,
- une injection de 100 unités H.L. de T.S.H.,
- des prises de sang aux temps : 30 minutes, 2 heures et 8 heures après l'injection, ces prélèvements et ceux qui les suivront étant destinés aux seules déterminations des paramètres hématologiques.

Le lendemain, une nouvelle soustraction sanguine précède une seconde injection de T.S.H.

Le surlendemain, soit 48 heures après la première injection, le sang est de nouveau examiné, comme il le sera encore 5 jours après la première injection de T.S.H.

B.- EXPÉRIMENTATION PROPREMENT DITE

Le protocole opératoire ci-dessus a donc été appliqué aux trois groupes d'animaux cités plus haut.

a.- Lapins privés de thyroïde et surchargés en thyroxine

- **Nombre d'animaux :** 22.
- **État des animaux au moment de l'injection de T.S.H. :** 70 jours après administration de radio-iode (1,5 millicurie par lapin), les animaux ont reçu un traitement par la thyroxine à raison de 10 injections réparties sur 19 jours, les 5 premières de 100 microgrammes et les 5 autres de 500 microgrammes.
- **Expérimentation :** Ces animaux ont été divisés, au hasard, en 2 groupes :
 - 12 d'entre eux ont été l'objet de prélèvements de sang et d'injections de T.S.H. active selon les modalités précisées ci-dessus,
 - les 10 autres, servant de témoins, ont subi, dans les mêmes conditions, prélèvements de sang et injections de T.S.H. inactivée.

Les iodémies hormonales moyennes des deux groupes étaient respectivement de 10,6 et 12,9 microgrammes pour 100 ml avant l'administration de T.S.H.

- **Résultats relatifs au premier groupe d'animaux :** La première injection de T.S.H. a provoqué la mort de 3 animaux avant le prélèvement de la huitième heure et la seconde injection en a tué 3 autres; en conséquence, les résultats communiqués ne portent que sur 9 animaux suivis pendant 24 heures seulement; ils sont réunis dans le tableau N° 19.

T A B L E A U N° 19

**MODIFICATIONS LEUCOCYTAIRES,
EXPRIMÉES EN POURCENTAGE D'AUGMENTATION (+) OU DE DIMINUTION (—),
CONSÉCUTIVES A L'INJECTION DE T.S.H.
CHEZ LE LAPIN PRIVÉ DE THYROÏDE ET SURCHARGÉ EN T4**

P : probabilité

Leucocytes étudiés	T E M P S							
	30 minutes		2 heures		8 heures		24 heures	
	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P
Leucocytes totaux	+ 8,9	> 0,30	+ 6,5	> 0,60	+ 68,8	> 0,10	+ 65,5	> 0,05
Basophiles	-- 24,6	< 0,05	— 50 9	< 0,001	— 38,2	< 0,05	— 8,9	> 0,60
Éosinophiles	— 29,9	< 0,025	— 91,1	< 0,001	-- 76,1	< 0,001	+ 2,3	> 0,90

On remarque une augmentation sensible et prolongée du nombre des leucocytes totaux, opposée à la diminution de ceux des granulocytes basophiles et éosinophiles : ce phénomène est précoce et bref pour les basophiles, un peu décalé et plus accentué pour les éosinophiles.

Les résultats relatifs aux animaux témoins sont rassemblés dans le tableau N° 21.

T A B L E A U N° 21
MODIFICATIONS LEUCOCYTAIRES,
EXPRIMÉES EN POURCENTAGE D'AUGMENTATION (+) OU DE DIMINUTION (–),
CONSÉCUTIVES A DES INJECTIONS DE T.S.H. INACTIVÉE CHEZ LE LAPIN NORMAL
P : probabilité

Leucocytes	T E M P S											
	30 minutes		2 heures		8 heures		24 heures		48 heures		5 jours	
	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P
Leucocytes totaux	– 3,1	> 0,30	+ 4,5	> 0,70	+ 41,7	< 0,05	+ 28,4	> 0,05	+ 17,1	> 0,10	+ 35,4	< 0,05
Basophiles	– 11,0	> 0,10	– 16,8	> 0,20	+ 45,0	> 0,10	+ 22,5	> 0,05	+ 17,6	> 0,20	+ 47,0	> 0,10
Éosinophiles	– 9,0	> 0,05	– 12,2	> 0,20	– 14,7	> 0,05	+ 38,7	> 0,10	– 30,6	< 0,05	+ 11,0	> 0,60

On trouve à nouveau une élévation du nombre des leucocytes totaux mais aucune variation statistiquement significative au niveau des basophiles. Une éosinopénie se manifeste temporairement à la quarante-huitième heure.

La comparaison des réponses enregistrées dans les deux groupes d'animaux a été effectuée selon STUDENT-FISHER; elle est résumée dans le tableau N° 22.

Elle montre que la seule variation qui puisse être rapportée à la T.S.H. active est une brève éosinopénie, qui se manifeste à la huitième heure.

T A B L E A U N° 22
DIFFÉRENCES ENTRE LES RÉSULTATS DES MODIFICATIONS LEUCOCYTAIRES
CONSÉCUTIVES A DES INJECTIONS DE T.S.H. ACTIVE ET DE T.S.H. INACTIVÉE
CHEZ LE LAPIN NORMAL
P : probabilité

Leucocytes	T E M P S											
	30 minutes		2 heures		8 heures		24 heures		48 heures		5 jours	
	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P
Leucocytes totaux	+ 12,4	> 0,20	+ 4,6	> 0,70	+ 2,8	> 0,80	+ 2,6	> 0,80	+ 4,4	> 0,70	– 9,7	> 0,60
Basophiles	– 0,5	> 0,95	– 19,0	> 0,20	– 36,2	> 0,30	– 1,7	> 0,90	+ 22,3	> 0,30	+ 26,2	> 0,50
Éosinophiles	+ 6,1	> 0,40	– 28,0	> 0,05	– 30,3	< 0,02	– 33,5	> 0,20	+ 54,9	> 0,05	– 15,9	> 0,60

c.- Lapins normaux surchargés en thyroxine

Nous avons décidé d'administrer aux lapins normaux des doses de thyroxine beaucoup plus faibles que celles qui avaient été utilisées chez les animaux thyroïdectomisés : nous pensions en effet que le grand nombre de morts enregistrées chez ces derniers animaux après injection de T.S.H. avait pour cause une surcharge excessive en thyroxine.

- **Nombre d'animaux :** 20.
- **État des lapins au moment de l'injection de T.S.H. :** Les lapins ont reçu 7 injections de 100 microgrammes chacune, régulièrement réparties sur 13 jours.
- **Expérimentation :**

Le lendemain de la septième injection, et sans interrompre l'administration de thyroxine, commence le cycle des prélèvements et des injections de T.S.H. selon le protocole général décrit plus haut : 10 animaux reçoivent de la T.S.H. active, les 10 autres le même produit inactivé.

Les iodémies moyennes de départ des premier et second groupes sont respectivement de 4,4 et 4,0 microgrammes pour 100 ml.

- **Résultats :**
Les 20 animaux ont survécu.

Pour le premier groupe, les variations enregistrées dans les numérations des leucocytes sanguins sont réunies dans le tableau N° 23.

T A B L E A U N° 23
MODIFICATIONS LEUCOCYTAIRES,
EXPRIMÉES EN POURCENTAGE D'AUGMENTATION (+) OU DE DIMINUTION (—),
CONSÉCUTIVES A DES INJECTIONS DE T.S.H.
CHEZ LE LAPIN SURCHARGÉ EN T4

P : probabilité

Leucocytes	T E M P S											
	30 minutes		2 heures		8 heures		24 heures		48 heures		5 jours	
	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P
Leucocytes totaux	— 9,8	> 0,05	+ 0,7	> 0,90	+ 43,9	< 0,05	+ 23,3	> 0,05	+ 10,1	> 0,50	+ 4,7	> 0,60
Basophiles	— 14,8	< 0,05	— 39,6	< 0,001	— 21,6	< 0,01	+ 38,4	< 0,05	+ 31,9	> 0,20	— 1,2	> 0,90
Éosinophiles	— 30,0	< 0,005	— 64,0	< 0,001	— 73,4	< 0,001	+ 25,2	> 0,30	+ 26,5	> 0,20	19,5	> 0,20

Alors que le nombre des leucocytes totaux subit une augmentation temporaire à la huitième heure, ceux des basophiles et éosinophiles sont diminués dès la trentième minute; le phénomène affectant les basophiles atteint son amplitude maximale à la deuxième heure, alors que l'éosinopénie la plus importante est enregistrée à la-huitième heure.

Pour le groupe témoin, les résultats sont présentés dans le tableau N° 24. Ils sont sensiblement identiques aux précédents avec toutefois une augmentation réactionnelle du nombre des granulocytes basophiles et éosinophiles à la vingt-quatrième heure.

T A B L E A U N° 24
MODIFICATIONS LEUCOCYTAIRES,
EXPRIMÉES EN POURCENTAGE D'AUGMENTATION (+) OU DE DIMINUTION (-),
CONSÉCUTIVES A DES INJECTIONS DE T.S.H. INACTIVÉE
CHEZ LE LAPIN SURCHARGÉ EN T4

P : probabilité

Leucocytes	T E M P S											
	30 minutes		2 heures		8 heures		24 heures		48 heures		5 jours	
	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P
Leucocytes totaux	- 8,8	> 0,40	- 7,9	> 0,50	+ 77,9	< 0,005	+ 25,5	> 0,05	+ 13,2	> 0,10	+ 21,1	> 0,05
Basophiles	- 16,7	< 0,005	- 44,9	< 0,001	- 22,6	< 0,02	+ 30,7	< 0,025	+ 45,5	< 0,05	+ 8,2	> 0,60
Éosinophiles	- 39,3	< 0,005	- 71,1	< 0,001	- 65,6	< 0,001	+ 50,1	< 0,05	+ 65,1	< 0,025	- 3,9	> 0,80

La comparaison des réponses des deux groupes d'animaux est résumée dans le tableau N° 25. Elle montre, comme on pouvait s'y attendre, qu'il n'existe aucune différence statistiquement significative entre les effets de la T.S.H. active et ceux de la T.S.H. inactivée.

T A B L E A U N° 25
DIFFÉRENCES ENTRE LES RÉSULTATS DES MODIFICATIONS LEUCOCYTAIRES
CONSÉCUTIVES A DES INJECTIONS DE T.S.H. ACTIVE ET DE T.S.H. INACTIVÉE
CHEZ LE LAPIN SURCHARGÉ EN T4

P : probabilité

Leucocytes	T E M P S											
	30 minutes		2 heures		8 heures		24 heures		48 heures		5 jours	
	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P	Modifications leucocytaires	P
Leucocytes totaux	- 1,0	> 0,90	- 7,2	> 0,60	- 34,0	> 0,10	- 2,2	> 0,90	- 3,1	> 0,80	- 16,4	> 0,20
Basophiles	+ 1,9	> 0,70	+ 5,3	> 0,40	+ 1,1	> 0,90	+ 7,8	> 0,70	- 13,5	> 0,60	+ 9,5	> 0,60
Éosinophiles	+ 9,3	> 0,40	+ 7,1	> 0,60	- 7,9	> 0,50	- 25,0	> 0,40	- 38,6	> 0,20	- 15,7	> 0,50

4.- DISCUSSION GÉNÉRALE DES RÉSULTATS

L'administration de la préparation commerciale de thyroostimuline hypophysaire provoque chez le Lapin de très grandes perturbations de l'équilibre leucocytaire, principalement dans les lignées basophile et éosinophile mais, le plus souvent, il n'existe aucune relation entre les phénomènes observés et l'activité du produit appréciée sur l'élévation de l'iodémie hormonale.

Tout au plus peut-on retenir, dans le groupe des lapins normaux non surchargés en thyroxine, une éosinopénie statistiquement significative à la huitième heure. Ce phénomène ne se retrouve pas chez les animaux préalablement traités par la thyroxine, ce qui permet de supposer que l'éosinopénie ne traduit pas les effets de la T.S.H. elle-même mais qu'elle est due, en fait, à l'augmentation des taux de thyroxine circulante.

Il est cependant peu recommandable de chercher à percevoir des effets hématologiques spécifiques, peut-être minimes, au cours d'expérimentations qui s'accompagnent par ailleurs de telles perturbations chez les animaux témoins.

Nous avons tout lieu de penser que ces variations importantes ne sont pas dues à un composé thermostable particulier mais plutôt aux protéines constituant l'extrait hypophysaire.

Le pouvoir éosinopéniant des protéines étrangères a déjà été signalé (15, 24, 85) : il s'observerait même en l'absence de surrénales (15, 24); cependant, tous les auteurs n'aboutissent pas à des conclusions identiques. STEINBERG et coll. (164) obtiennent, chez le Lapin, par injections de lait ou d'extraits d'organes, une leucopénie non spécifique, suivie d'une leucocytose. De nombreux travaux relatifs aux effets médullaires d'injections sous-cutanées répétées de sérum de Cheval chez le Cobaye font mention d'augmentations affectant le nombre soit des basophiles seuls (2), soit des éosinophiles seuls (95), soit des deux à la fois (96); l'hémogramme correspondant s'avère variable selon le protocole opératoire et les délais de l'examen par rapport aux injections (97, 178).

Aucune conclusion valable ne peut donc être tirée des travaux que nous avons effectués avec la T.S.H. commerciale dont nous disposons.

Nous avons alors pensé aborder ce problème d'une autre façon : non plus en injectant une hormone étrangère mais en stimulant la sécrétion de T.S.H. endogène par administration d'un antithyroïdien de synthèse, notamment par le carbimazole, selon l'épreuve proposée par STUDER et coll. (165) et introduite en France par LINQUETTE (113) et par BRICAIRE (42). Nous n'avons cependant pas retenu cette idée, en raison, d'une part, de certaines réserves émises quant à la validité de cette épreuve (177), mais surtout par crainte de ne pas savoir dissocier, dans les effets hématologiques observés, la part qui revient à l'augmentation de la sécrétion de T.S.H. de celle qui revient à l'antithyroïdien utilisé, ce composé pouvant être pourvu de propriétés pharmacologiques autres que celle qui se manifeste au niveau de la thyroïde.

*

* *

C H A P I T R E V I I I

MODIFICATIONS LEUCOCYTAIRES CONSECUTIVES A UN EFFORT MUSCULAIRE BREF ET INTENSE CHEZ L'HOMME

1.- TRAVAUX ANTÉRIEURS

Le nombre total des leucocytes du sang circulant, qui peut être calculé d'après les données des numérations et du volume sanguin, ne représente en réalité qu'une fraction de l'ensemble de ces cellules présentes dans l'organisme. Le fait est bien connu pour les granulocytes neutrophiles (28) : certains se trouvent dans les tissus en dehors des capillaires, mais leur importance numérique est mal définie; d'autres sont à l'intérieur du système circulatoire et comportent deux parties sensiblement égales (18) : une représentée par les cellules réellement circulantes véhiculées par le sang, l'autre se trouvant au repos, en margination des petits vaisseaux tissulaires. Enfin, il faut ajouter à ces trois catégories la réserve de la moelle osseuse.

Les données relatives aux lymphocytes sont moins précises mais on a quelque raison de penser que des éléments doivent également se trouver au repos, en margination dans les petits vaisseaux lymphatiques. Quant aux monocytes, granulocytes éosinophiles et basophiles, leur étude est beaucoup moins avancée en raison des difficultés suscitées par leur faible représentation numérique.

Quoi qu'il en soit, ces réserves leucocytaires peuvent être mobilisées par l'organisme sous des influences diverses, en particulier par l'effort musculaire. Que ce dernier soit bref ou prolongé, il s'ensuit toujours une leucocytose périphérique. Elle est du type polynucléose pour l'exercice physique de longue durée mais les résultats trouvés à la suite d'efforts brefs et intenses ne sont pas tous concordants, vraisemblablement en raison de la diversité des protocoles expérimentaux, soulignée par ROUGIER et coll. (151) dans une revue générale récente relative à l'influence des activités physiques sur les électrolytes sanguins. Dans le domaine hématologique, les résultats les plus divers ont été rapportés : polynucléose (120, 176, 179), lymphocytose (3, 111, 166), monocytose (3) ou même absence de modification de la formule leucocytaire (77). Les éosinopénies enregistrées à la suite d'efforts de courte durée ont été rapportées à des stress. Quant aux granulocytes basophiles, ils n'ont pas suscité, à notre connaissance, d'étude particulière.

2.- RECHERCHES PERSONNELLES

Disposant de méthodes suffisamment précises de numération des granulocytes éosinophiles et basophiles dans le sang, nous avons pensé qu'il pourrait être intéressant de connaître

si les modifications quantitatives de ces cellules étaient ou non comparables à celles de leurs homologues neutrophiles. En d'autres termes, la question se posait de savoir si la composition de la réserve granulocytaire en margination vasculaire était identique à celle des éléments circulants et si les cellules des trois types étaient sollicitées de façon semblable lors de la mobilisation de cette réserve.

Le dénombrement différentiel des granulocytes neutrophiles sur frottis conduisant à déterminer en même temps les variations lymphocytaires, l'étude statistique habituelle selon STUDENT-FISHER (différence significative "t" et probabilité "P") nous a permis de comparer deux à deux les diverses catégories de leucocytes, à l'exception des monocytes, dont les évaluations sont trop imprécises pour permettre des conclusions certaines. Par ailleurs, la nécessité d'avoir recours à une expérimentation témoin nous a conduite à chiffrer l'importance des variations leucocytaires spontanées, diversement appréciées selon les auteurs.

A.- PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

Douze hommes sains, à jeun, ont été soumis, au début de la matinée, à l'épreuve dite « du banc » (43), qui consiste à monter sur un tabouret de 51 cm de hauteur, puis à en descendre, 30 fois par minute durant 5 minutes. Un prélèvement de sang capillaire est effectué immédiatement avant l'épreuve (temps 0), puis 5, 30, 90 et 180 minutes après celle-ci, les sujets ayant repris leur occupation habituelle, qui oblige à une station debout mais ne nécessite aucun effort musculaire. Sur chaque prélèvement sanguin, il est procédé à des numérations de leucocytes totaux, de granulocytes éosinophiles et basophiles et à une formule leucocytaire.

La veille de l'épreuve, des examens identiques ont été pratiqués chez les mêmes sujets non soumis à l'effort physique (témoins) mais suivant le même horaire, à l'exception toutefois du temps 5 minutes, une expérimentation préliminaire effectuée chez les trois premiers individus ayant montré que les variations leucocytaires du sang périphérique étaient, comme on pouvait s'y attendre, pratiquement nulles durant ce délai.

B.- RÉSULTATS

a.- Variations leucocytaires spontanées en trois heures (tableau N° 26)

Dans ce tableau, les nombres indiqués pour les leucocytes totaux (L.T.), granulocytes neutrophiles (G.N.), lymphocytes (L.), granulocytes éosinophiles (G.E.) et granulocytes basophiles (G.B.) représentent les moyennes calculées sur l'ensemble des 12 sujets, tant pour la valeur absolue (V.A.), c'est-à-dire le nombre de cellules par microlitre de sang, que pour la valeur relative (V.R.) ou pourcentage dans la formule leucocytaire; ils sont suivis de l'erreur standard. Les colonnes P indiquent la probabilité de la signification des différences observées entre les groupes « effort » et « témoins » pour les temps 30 minutes, 1 heure 30 et 3 heures, la variable individuelle choisie étant le pourcentage de variation par rapport au temps 0.

TABLEAU N° 26

VARIATIONS LEUCOCYTAIRES SPONTANÉES EN 3 HEURES

Leucocytes	Temps 0	30 minutes	P	1 heure 30	P	3 heures	P
L.T. (V.A.)	6.200 ± 480	6.300 ± 614	> 0,9	6.500 ± 503	> 0,6	6.200 ± 460	1
G.N. (V.A.)	3.860 ± 497	3.760 ± 514	> 0,8	3.900 ± 573	> 0,95	3.820 ± 477	> 0,95
G.N. (V.R.)	60,3 ± 4,4	60,3 ± 3,1	1	58,0 ± 5,0	> 0,7	60,0 ± 4,3	> 0,95
L. (V.A.)	1.740 ± 151	1.670 ± 197	> 0,7	1.960 ± 227	> 0,4	1.770 ± 205	> 0,9
L. (V.R.)	30,0 ± 2,9	27,0 ± 2,5	> 0,4	33,0 ± 4,5	> 0,5	31,0 ± 4,7	> 0,8
G.E. (V.A.)	259 ± 49	249 ± 35	> 0,8	222 ± 31	> 0,5	204 ± 31	> 0,3
G.E. (V.R.)	4,4 ± 0,93	5,1 ± 0,69	> 0,5	3,7 ± 0,60	> 0,5	3,5 ± 0,53	> 0,4
G.B. (V.A.)	39 ± 3,7	38 ± 5,1	> 0,8	38 ± 4,9	> 0,8	38 ± 4,3	> 0,8
G.B. (V.R.)	0,64 ± 0,07	0,62 ± 0,08	> 0,8	0,58 ± 0,07	> 0,5	0,62 ± 0,07	> 0,8

Il apparaît clairement qu'en l'absence d'effort physique, il n'existe aucune modification significative du nombre des leucocytes totaux et de la représentation des diverses variétés de leucocytes étudiés, que celle-ci soit exprimée en valeur absolue ou relative. La stabilité enregistrée est meilleure que celle qui est rapportée par GOGUEL et coll. (86) dans une étude récente relative aux leucocytes totaux et à l'hémoglobine.

b.- Variations leucocytaires consécutives à l'effort physique

Elles sont résumées pour chacun des temps (5 minutes, 30 minutes, 1 heure 30 et 3 heures) dans les tableaux N° 27 à 30, dont la lecture nécessite cependant quelques explications quant au mode d'expression des résultats.

Les calculs ont été effectués soit en partant du nombre de leucocytes par microlitre de sang (valeur absolue, ou V.A.), soit en partant des résultats de la formule leucocytaire (valeur relative ou V.R.)

Mode d'expression des V.A.

Les résultats obtenus aux temps 0 (épreuve d'effort et épreuve témoin) ayant été affectés de l'indice 100, il a été calculé pour ces deux épreuves les pourcentages d'augmentation ou de diminution propres à chaque sujet et pour chacun des temps considérés. Les tableaux indiquent, pour chaque temps, les valeurs extrêmes et la moyenne, suivie de l'erreur standard, correspondant aux différences « effort - témoin », les augmentations étant figurées par (+) et les diminutions par (—); ils rapportent également la probabilité P.

Mode d'expression des V.R.

Deux rubriques sont envisagées, tant pour les valeurs extrêmes que pour la moyenne :

V.R. 1 : Le calcul porte sur les résultats propres des formules leucocytaires. Pour chaque temps, on commence par calculer la différence algébrique entre le résultat trouvé au temps considéré

et celui du temps 0; ce calcul est fait aussi bien pour l'épreuve d'effort (DE) que pour l'épreuve témoin (DT). On en déduit ensuite V.R.1 tel que :

V.R.1 = DE – DT.

V.R. 2 : le mode de calcul est identique à celui de V.R.1 mais les résultats de la formule leucocytaire aux temps 0 (épreuve d'effort et épreuve témoin) sont affectés de l'indice 100.

La colonne « Nombre de cas » indique, pour les 12 sujets, les nombres des augmentations (↑), diminutions (↓) et absences de variation (=).

La probabilité P est calculée sur la moyenne définie plus haut.

Chacun de ces quatre tableaux, affecté de la lettre A, est complété par un autre (lettre B) qui indique la valeur de P pour les différences entre les variations numériques des diverses catégories de leucocytes étudiées deux à deux, les calculs ne portant naturellement que sur V.A. et V.R.2 (expression des résultats en pourcentages d'augmentation ou de diminution). S'il existe, par exemple, une lymphocytose et une polynucléose absolues, cette valeur de P précise si ces deux modifications ne sont que l'expression d'une leucocytose générale et homogène (P > 0,05) ou si l'une est statistiquement significative par rapport à l'autre (P < 0,05).

TABLEAU N° 27 A
VARIATIONS LEUCOCYTAIRES CONSTATÉES 5 MINUTES APRÈS L'EFFORT
PAR RAPPORT A L'ÉPREUVE TÉMOIN

Leucocytes	Nombre de cas			Valeurs extrêmes		Moyenne ± Erreur standard	P
	↑	↓	=				
L.T.	12	0	0	+ 26	+ 80	+ 52,7 ± 4,8	< 0,001
G.N. (V.A.)	12	0	0	+ 10	+ 99	+ 42,0 ± 6,5	< 0,001
G.N. (V.R.1)	1	11	0	+ 5	– 13	– 4,7 ± 1,32	< 0,02
G.N. (V.R.2)	1	11	0	+ 14,5	– 33,4	– 10,0 ± 3,35	< 0,01
L. (V.A.)	12	0	0	+ 36	+ 131	+ 83,0 ± 7,9	< 0,001
L. (V.R.1)	11	1	0	+ 14	– 2,5	+ 6,3 ± 1,31	< 0,001
L. (V.R.2)	11	1	0	+ 54	– 5,4	+ 20,6 ± 4,6	< 0,001
G.E. (V.A.)	12	0	0	+ 35	+ 143	+ 73,0 ± 10,8	< 0,001
G.E. (V.R.1)	10	2	0	+ 2,4	– 0,4	+ 0,4 ± 0,22	> 0,05
G.E. (V.R.2)	10	2	0	+ 65	– 12,3	+ 14,6 ± 7,0	< 0,05
G.B. (V.A.)	12	0	0	+ 16	+ 89	+ 44,7 ± 6,1	< 0,001
G.B. (V.R.1)	3	8	1	+ 0,13	– 0,16	– 0,04 ± 0,026	> 0,1
G.B. (V.R.2)	3	8	1	+ 24,1	– 22,0	– 4,7 ± 3,8	> 0,2

TABLEAU N° 27 B
VALEURS DE P POUR LES DIFFÉRENCES ENTRE LES VARIATIONS NUMÉRIQUES
DE DIVERSES CATÉGORIES DE LEUCOCYTES ÉTUDIÉES DEUX A DEUX

Différences entre :	Valeurs absolues (V.A.)	P	Valeurs relatives (V.R.2)	P
L. et G.N.	+ 41	< 0,001	+ 30,6	< 0,001
L. et G.E.	+ 10	> 0,4	+ 6	> 0,4
L. et G.B.	+ 38,3	< 0,01	+ 25,3	< 0,001
G.N. et G.E.	– 31	< 0,05	– 24,6	< 0,005
G.N. et G.B.	– 2,7	> 0,8	– 5,3	> 0,3
G.E. et G.B.	+ 28,3	< 0,05	+ 19,3	< 0,025

T A B L E A U N° 28 A

VARIATIONS LEUCOCYTAIRES CONSTATÉES 30 MINUTES APRÈS L'EFFORT
PAR RAPPORT A L'ÉPREUVE TÉMOIN

Leucocytes	Nombre de cas			Valeurs extrêmes		Moyenne ± Erreur standard	P
	↑	↓	=				
L.T.	4	8	0	+ 17	− 37	− 10 ± 6,0	> 0,1
G.N. (V.A.)	6	6	0	+ 22	− 69	− 11 ± 7,8	> 0,1
G.N. (V.R.1)	6	6	0	+ 26	− 21	− 0,5 ± 3,2	> 0,8
G.N. (V.R.2)	6	6	0	+ 36,7	− 31,2	− 2,4 ± 5,0	> 0,6
L. (V.A.)	6	5	1	+ 85	− 129	− 1 ± 15,6	> 0,95
L. (V.R.1)	6	6	0	+ 18	− 21	+ 1,8 ± 3,0	> 0,5
L. (V.R.2)	6	6	0	+ 66,7	− 103,2	+ 6,3 ± 12,9	> 0,6
G.E. (V.A.)	8	4	0	+ 70	− 38	+ 9,4 ± 8,8	> 0,3
G.E. (V.R.1)	9	2	1	+ 4,1	− 0,45	+ 0,87 ± 0,39	< 0,05
G.E. (V.R.2)	10	2	0	+ 113,9	− 35,9	+ 19 ± 10,6	> 0,05
G.B. (V.A.)	7	5	0	+ 50	− 49	− 4 ± 9,9	> 0,6
G.B. (V.R.1)	8	4	0	+ 0,62	− 0,25	+ 0,09 ± 0,09	> 0,3
G.B. (V.R.2)	10	2	0	+ 110,6	− 63,1	+ 27 ± 13,4	> 0,05

T A B L E A U N° 28 B

VALEURS DE P POUR LES DIFFÉRENCES ENTRE LES VARIATIONS NUMÉRIQUES
DE DIVERSES CATÉGORIES DE LEUCOCYTES ÉTUDIÉES DEUX A DEUX

Différences entre :	Valeurs absolues (V.A.)	P	Valeurs relatives (V.R.2)	P
L. et G.N.	+ 10	> 0,5	+ 8,7	> 0,5
L. et G.E.	− 10,4	> 0,5	− 12,7	> 0,4
L. et G.B.	+ 3	> 0,8	− 20,7	> 0,2
G.N. et G.E.	− 20,4	> 0,05	− 21,4	> 0,05
G.N. et G.B.	− 7	> 0,5	− 29,4	> 0,05
G.E. et G.B.	+ 13,4	> 0,3	− 8	> 0,6

TABLEAU N° 29 A

**VARIATIONS LEUCOCYTAIRES CONSTATÉES 1 H 30 APRÈS L'EFFORT
PAR RAPPORT A L'ÉPREUVE TÉMOIN**

Leucocytes	Nombre de cas			Valeurs extrêmes		Moyenne $\pm$ Erreur standard	P
	$\nearrow$	$\searrow$	=				
L.T.	5	7	0	+ 18	- 48	- 6 $\pm$ 5,5	> 0,2
G.N. (V.A.)	9	3	0	+ 55	- 96	+ 10 $\pm$ 12,8	> 0,4
G.N. (V.R.1)	10	2	0	+ 26	- 22	+ 9,2 $\pm$ 4,4	< 0,05
G.N. (V.R.2)	10	2	0	+ 43,3	- 44,4	+ 16,7 $\pm$ 7,9	< 0,05
L. (V.A.)	3	9	0	+ 75	- 216	- 36 $\pm$ 20	> 0,05
L. (V.R.1)	3	9	0	+ 19	- 28	- 10 $\pm$ 6,2	> 0,1
L. (V.R.2)	3	9	0	+ 56,7	- 227,5	- 37,7 $\pm$ 20,9	> 0,05
G.E. (V.A.)	6	6	0	+ 46	- 52	- 3,4 $\pm$ 6,7	> 0,6
G.E. (V.R.1)	6	6	0	+ 1,4	- 2,0	+ 0,01 $\pm$ 0,27	> 0,95
G.E. (V.R.2)	5	7	0	+ 47,5	- 41,4	- 0,5 $\pm$ 7,5	> 0,95
G.B. (V.A.)	7	5	0	+ 36	- 82	- 7 $\pm$ 8,9	> 0,4
G.B. (V.R.1)	6	6	0	+ 0,24	- 0,23	- 0,01 $\pm$ 0,06	> 0,8
G.B. (V.R.2)	6	6	0	+ 71,1	- 29,8	+ 0,3 $\pm$ 11,8	> 0,98

TABLEAU N° 29 B

**VALEURS DE P POUR LES DIFFÉRENCES ENTRE LES VARIATIONS NUMÉRIQUES
DE DIVERSES CATÉGORIES DE LEUCOCYTES ÉTUDIÉES DEUX A DEUX**

Différences entre :	Valeurs absolues (V.A.)	P	Valeurs relatives (V.R.2)	P
L. et G.N.	- 46	> 0,05	- 54,4	< 0,025
L. et G.E.	- 32,6	> 0,1	- 37,2	> 0,1
L. et G.B.	- 29	> 0,2	- 38	> 0,1
G.N. et G.E.	+ 13,4	> 0,05	+ 17,2	> 0,1
G.N. et G.B.	+ 17	> 0,2	+ 16,4	> 0,2
G.E. et G.B.	+ 3,6	> 0,7	- 0,8	> 0,95

T A B L E A U N° 30 A

VARIATIONS LEUCOCYTAIRES CONSTATÉES 3 H APRÈS L'EFFORT
PAR RAPPORT A L'ÉPREUVE TÉMOIN

Leucocytes	Nombre de cas			Valeurs extrêmes		Moyenne ± Erreur standard	P
	↑	↘	=				
L.T.	7	5	0	+ 31	– 18	+ 6 ± 1,3	> 0,2
G.N. (V.A.)	8	3	1	+ 76	– 23	+ 22 ± 9,1	< 0,05
G.N. (V.R.1)	9	2	1	+ 32	– 4	+ 7,7 ± 3,15	< 0,025
G.N. (V.R.2)	9	3	0	+ 53,9	– 8,6	+ 12,8 ± 5,1	< 0,02
L. (V.A.)	5	7	0	+ 73	– 201	– 22 ± 19,1	> 0,2
L. (V.R.1)	4	7	1	+ 8	– 26	– 6,7 ± 2,9	< 0,05
L. (V.R.2)	3	9	0	+ 44,8	– 174,2	– 26,5 ± 16,35	> 0,1
G.E. (V.A.)	6	5	1	+ 22	– 31	– 8 ± 5,0	> 0,1
G.E. (V.R.1)	4	8	0	+ 1,1	– 1,9	– 0,33 ± 0,28	> 0,2
G.E. (V.R.2)	3	9	0	+ 35,9	– 39,4	– 9,5 ± 6,85	> 0,1
G.B. (V.A.)	4	8	0	+ 18	– 62	– 15 ± 7,1	< 0,05
G.B. (V.R.1)	3	8	1	+ 0,06	– 0,46	– 0,10 ± 0,04	< 0,05
G.B. (V.R.2)	3	9	0	+ 16,2	– 53,3	– 18,2 ± 6,95	< 0,02

T A B L E A U N° 30 B

VALEURS DE P POUR LES DIFFÉRENCES ENTRE LES VARIATIONS NUMÉRIQUES
DE DIVERSES CATÉGORIES DE LEUCOCYTES ÉTUDIÉES DEUX A DEUX

Différences entre :	Valeurs absolues (V.A.)	P	Valeurs relatives (V.R.2)	P
L. et G.N.	– 43,6	< 0,05	– 39,3	< 0,05
L. et G.E.	– 14	> 0,4	– 17	> 0,3
L. et G.B.	– 7	> 0,7	– 8,3	> 0,6
G.N. et G.E.	+ 29,6	< 0,01	+ 22,3	< 0,02
G.N. et G.B.	+ 36,6	< 0,01	+ 31	< 0,005
G.E. et G.B.	+ 7	> 0,4	+ 8,7	> 0,3

3.- DISCUSSION DES RÉSULTATS

Les variations leucocytaires les plus marquées se situent dans nos conditions expérimentales au bout de 5 minutes, ce qui n'exclut d'ailleurs pas une réponse maximale réelle plus précoce ou un peu plus tardive (deux ou quinze minutes par exemple). Quoi qu'il en soit, il existe à ce moment-là une leucocytose globale et toutes les augmentations en valeur absolue des diverses catégories de leucocytes étudiées sont hautement significatives. En valeur relative, seuls les lymphocytes et les granulocytes neutrophiles sont affectés de façon indiscutable : on trouve, sauf dans un cas, une lymphocytose accompagnée de granulocytopénie. L'éosinophilie relative ne peut être retenue que dans le cas des V.R.2.

De l'examen du tableau 27 B, il ressort que lymphocytes et éosinophiles sont liés dans leurs variations, comme sont liés granulocytes neutrophiles et basophiles, les cellules du premier groupe se différenciant de celles du second par un accroissement numérique beaucoup plus marqué.

Les raisons possibles de ces disparités doivent être jugées en tenant compte de ce que plusieurs facteurs peuvent intervenir pour modifier la teneur du sang périphérique en leucocytes après un effort physique. Un accroissement de la circulation lymphatique a été avancé pour expliquer la lymphocytose déjà décrite (3, 111, 166), mais la composition de la réserve leucocytaire en margination vasculaire (lymphatique et sanguine) et les modalités de la mobilisation de ses constituants sont également à considérer : on ne peut donc avancer d'hypothèse à propos des lymphocytes, la réaction observée étant la résultante de plusieurs variables dont nous ignorons les importances individuelles. Par contre, il est certain que les modifications numériques qui sont enregistrées pour les trois variétés de granulocytes ne peuvent être que le résultat de la mobilisation de la réserve en margination des vaisseaux sanguins. Or, la différence nette qui existe dans la réponse à l'épreuve d'effort entre les granulocytes neutrophiles et basophiles d'une part, et les granulocytes éosinophiles d'autre part, permet de penser que, pour ce qui concerne les deux premiers types de cellules, la réserve est à la fois qualitativement comparable dans sa composition à celle du sang circulant (formule leucocytaire) et mobilisable de façon identique, mais qu'il en va autrement pour les éosinophiles : ces derniers, comparés à leurs homologues, peuvent être proportionnellement plus nombreux dans la réserve vasculaire, ou plus aisément mobilisables sous l'influence d'un exercice physique, ou présenter tout à la fois les deux particularités.

Trente minutes après l'effort, il n'existe pratiquement pas de variation leucocytaire statistiquement significative, sauf une éosinophilie relative (V.R.1), mais elle doit être appréciée avec circonspection car elle perd toute signification si on l'exprime en pourcentage d'augmentation (V.R.2).

Après 1 heure 30, on observe une augmentation relative des neutrophiles, mieux objectivée par la comparaison des valeurs relatives lymphocytes-granulocytes neutrophiles (tableau 29 B).

Trois heures après l'épreuve, le phénomène enregistré au niveau des polynucléaires neutrophiles se maintient; il s'oppose à une diminution du nombre des basophiles : ces variations en sens inverse méritent d'être soulignées car nous avons vu que ces deux types de cellules étaient intéressés de façon comparable quelques minutes après l'effort physique. Quant à l'éosinopénie, elle n'acquiert de signification que par comparaison avec la polynucléose neutrophile (tableau 30 B).

*

* *

Cette étude des variations numériques des lymphocytes et des trois variétés de granulocytes dans le sang circulant effectuée à l'état normal et après un effort physique bref et intense chez des hommes normaux conduit donc aux conclusions suivantes :

1.- En l'absence d'exercice musculaire, il n'existe aucune modification significative du nombre des leucocytes totaux et de la représentation des quatre variétés de leucocytes étudiées, que celle-ci soit exprimée en valeur absolue ou relative.

2.- Cinq minutes après l'effort physique, on observe une leucocytose avec augmentation du nombre absolu des quatre catégories de leucocytes; cependant, les lymphocytes et les granulocytes éosinophiles présentent un accroissement numérique beaucoup plus marqué que celui des granulocytes neutrophiles et basophiles. Pour ce qui concerne les granulocytes, l'augmentation de leur nombre étant due à la mise en circulation de la réserve vasculaire, on peut penser que les éosinophiles qui se trouvent dans cette dernière doivent être proportionnellement plus nombreux ou plus aisément mobilisables ou bien qu'ils présentent à la fois les deux particularités.

L'expression des résultats en valeur relative révèle l'existence d'une lymphocytose accompagnée d'une neutropénie.

3.- Les variations observées ultérieurement sont le plus souvent disparates; il existe cependant, après 1 heure 30, une neutrophilie, qui n'est que relative, mais qui devient relative et absolue après 3 heures; on note alors une diminution du nombre des granulocytes basophiles.

*
* *

CHAPITRE IX

MODIFICATIONS HEMATOLOGIQUES AU COURS D'UNE SOUSTRACTION SANGUINE MODEREE CHEZ L'HOMME NORMAL

1.- TRAVAUX ANTÉRIEURS ET RAISONS DE L'ÉTUDE

Les modifications sanguines corrélatives d'une hémorragie sont connues depuis longtemps mais les données classiques (4, 52, 124, 156) ne font état que des réactions observées dans les heures et jours qui suivent; il n'est jamais fait mention de celles qui peuvent accompagner les déperditions sanguines elles-mêmes.

Or, nous savons que les donneurs de sang sont souvent retenus lorsqu'il s'agit de déterminer les valeurs normales de certains paramètres biologiques et que, pour des raisons d'asepsie, les examens sont toujours effectués sur les derniers millilitres de sang obtenus après le remplissage du flacon destiné aux transfusions.

Nous avons voulu savoir si la soustraction sanguine influençait les valeurs des constantes hématologiques ainsi déterminées. Pendant que notre travail était en cours, FLYNN et coll. (75) publiaient les résultats d'une étude comparable relative aux paramètres biochimiques.

2.- RECHERCHES PERSONNELLES

A.- PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

Nous nous sommes adressée à 20 donneurs de sang volontaires. Comme il ne pouvait être question de les soumettre à des contraintes supplémentaires, nous n'avons pas pu déterminer leur volémie; aussi avons-nous sélectionné des individus d'un même poids approximatif de 70 kg, la saignée (350 ml), effectuée en 5 minutes environ, correspondant ainsi à un pourcentage de déplétion sanguine identique pour tous et voisin de 6,6 ml pour 100 ml de volume théorique (5.300 ml).

Les examens ont été effectués sur le premier et le dernier millilitre de sang, en prenant toutes précautions pour ne pas souiller le flacon destiné aux transfusions; ils ont comporté les déterminations suivantes :

- dosage d'hémoglobine,
- numérations de leucocytes totaux, granulocytes éosinophiles et granulocytes basophiles,
- formule leucocytaire.

B.- RÉSULTATS

Les résultats trouvés pour le premier ml de sang, exprimés en valeur absolue, ayant été affectés de l'indice 100, ceux du dernier ml, toujours plus faibles que les précédents, sont exprimés ci-dessous en pourcentage de diminution, avec l'erreur standard correspondante :

Hémoglobine	2,9 ± 0,33
Leucocytes totaux	14,0 ± 1,54
Granulocytes neutrophiles	15,9 ± 1,76
Granulocytes basophiles	10,6 ± 3,39
Granulocytes éosinophiles	17,7 ± 2,35
Lymphocytes	13,3 ± 2,15

Il ressort de l'examen de ces chiffres que la composition cytologique du sang varie au cours du prélèvement, les derniers millilitres étant appauvris en cellules comparativement aux premiers.

3.- DISCUSSION DES RÉSULTATS

Si l'organisme subissait passivement la déplétion sanguine, il n'y aurait aucune raison pour que la composition du sang varie. Or, on constate qu'il en est autrement.

L'existence d'une diminution du taux de l'hémoglobine, certes faible mais constante (extrêmes : 0,7 et 6,2), témoigne vraisemblablement d'une hémodilution rapide. Si l'on admet par ailleurs l'éventualité d'un apport immédiat dans le système circulatoire d'hématies provenant d'une chasse splénique et peut-être du tissu érythropoïétique médullaire, cette hémodilution doit être en fait plus marquée.

Les données relatives aux leucocytes objectivent une diminution beaucoup plus importante, dépassant en pourcentage celui de la déplétion sanguine (6,6 pour 100). La comparaison statistique (différence significative " t " et probabilité " P ") entre ces données et celles de l'hémoglobine conduit aux résultats suivants pour " P ".

Valeurs comparées	P
Leucocytes totaux et hémoglobine	< 0,001
Granulocytes neutrophiles et hémoglobine	< 0,001
Granulocytes basophiles et hémoglobine	< 0,05
Granulocytes éosinophiles et hémoglobine	< 0,001
Lymphocytes et hémoglobine	< 0,001

Ces faits permettent de penser que les leucopénies observées ne sont certainement pas le reflet d'une simple hémodilution, qui serait disproportionnée avec l'importance de la soustraction sanguine, surtout si l'on admet l'hypothèse d'un mécanisme compensateur mettant en jeu l'éventuelle chasse splénique et le concours des tissus leucopoïétiques. Il faut donc envisager une intervention propre des leucocytes présents dans le système vasculaire : non seulement la réserve en margination ne donne lieu à aucune mobilisation mais, au contraire, tout porte à croire que les leucocytes circulants viennent accroître son importance en s'y incorporant, à moins qu'ils ne quittent ce système vasculaire en voie de déplétion pour se rendre vers les tissus. Ces deux phénomènes semblent l'inverse d'une compensation immédiate.

L'analyse statistique des résultats propres à chaque type de leucocytes, comparés deux à deux, montre qu'il n'existe dans aucun cas une différence significative. Il nous apparaît donc que le comportement comparable de cellules dont les possibilités de mouvement sont dissemblables témoigne plus en faveur d'un accroissement de la réserve en margination vasculaire que d'une migration vers les tissus. Au niveau leucocytaire, tout se passe donc comme si l'organisme, momentanément vaincu dans sa lutte pour l'homéostasie, préservait au moins son avenir plus éloigné.

CHAPITRE X

MODIFICATIONS HEMATOLOGIQUES AU COURS D'HEMORRAGIES IMPORTANTES ET AIGÜES CHEZ LE LAPIN

1.- RECHERCHES PERSONNELLES

Comme nous l'avons signalé dans le chapitre précédent, aucune étude, à notre connaissance, n'a porté sur les variations cytologiques enregistrées au cours même de l'hémorragie; c'est pourquoi, après avoir observé chez l'Homme les effets hématologiques immédiats d'une soustraction sanguine modérée, nous avons voulu connaître ceux d'une hémorragie importante.

Cette expérimentation n'a pu naturellement être entreprise que chez l'animal et il nous a semblé nécessaire de commencer par rechercher si le Lapin réagissait de la même façon que l'Homme à une déplétion sanguine identique. Nous avons ensuite voulu savoir s'il existait une corrélation entre l'importance du volume soustrait et les variations cytologiques enregistrées et quel était le seuil d'apparition des perturbations hématologiques. Enfin, dans le but de trouver une explication aux phénomènes observés, nous avons étudié la chronologie et la modalité des réactions organiques de défense.

A.- PROTOCOLE OPÉRATOIRE DES HÉMORRAGIES PROVOQUÉES

Les animaux sont anesthésiés par injection intra-péritonéale d'une solution d'uréthane à 50 pour 100, à raison de 2 ml par kg de poids corporel.

Une carotide est dégagée, sans faire saigner, ce qui est facile à réaliser mais très important à respecter, et deux centimètres de vaisseau sont isolés entre une ligature, vers l'extrémité céphalique, et une pince hémostatique du côté cardiaque; on y introduit alors rapidement un cathéter en polyéthylène dont les diamètres intérieur et extérieur sont respectivement de 0,86 et 1,52 millimètre. Dès que le cathéter est fixé, 2 ml de sang sont recueillis après avoir volontairement éliminé les cinq premières gouttes, qui représentent un liquide de stase : ce prélèvement correspond au temps 0. On laisse alors l'hémorragie se poursuivre en recevant le sang dans une éprouvette graduée et lorsque la déplétion sanguine totale a atteint le volume fixé, on reçoit dans un second tube les 2 ml de sang destinés aux examens biologiques; ces examens comportent toujours :

- une numération des leucocytes totaux,
- une numération des granulocytes basophiles,
- une numération des granulocytes éosinophiles,
- une formule leucocytaire destinée à l'évaluation des polynucléaires neutrophiles et des lymphocytes,
- un dosage d'hémoglobine, préféré à la numération des hématies parce que plus précis.

B.- OPÉRATIONS TÉMOINS

Il nous fallait, dans un premier temps, vérifier que l'anesthésique et le choc opératoire étaient sans influence sur le nombre des leucocytes circulants. Mais, chaque prélèvement sanguin représentant, en fait, une hémorragie, nous nous sommes attachée à réduire le plus possible l'importance de cette dernière en nous limitant à un nombre très réduit d'examens.

Expérimentation :

10 lapins anesthésiés sont cathétérisés.

Les cinq premières gouttes de sang qui s'écoulent sont éliminées et les trois autres servent à dénombrer les leucocytes totaux, les granulocytes basophiles et les éosinophiles (temps 0).

L'écoulement sanguin est interrompu à l'aide d'une pince hémostatique; après vingt minutes, la pince est supprimée, on élimine à nouveau les cinq premières gouttes de sang et on recueille les trois suivantes afin de répéter les mêmes examens qu'au temps 0.

Résultats :

Les résultats sont réunis dans le tableau N° 31; ils montrent que, pour les leucocytes étudiés, il n'existe aucune différence significative entre le temps « zéro » et le temps « 20 minutes ».

T A B L E A U N° 31
MODIFICATIONS LEUCOCYTAIRES
(Nombre de cellules par microlitre de sang ± erreur standard)
CHEZ LE LAPIN ANESTHÉSIÉ AUQUEL IL N'EST SOUSTRAIT QUE LE SANG NÉCESSAIRE
AUX EXAMENS HÉMATOLOGIQUES

P : probabilité de la différence entre les résultats obtenus aux temps 0 et 20 minutes

Leucocytes étudiés	Temps 0	Temps 20 minutes	P
Leucocytes totaux	8.300 ± 752	7.630 ± 566	> 0,40
Basophiles	377 ± 37,3	366 ± 32,0	> 0,80
Éosinophiles	189 ± 41,4	176 ± 37,4	> 0,80

C.- EFFETS HÉMATOLOGIQUES D'UNE SOUSTRACTION SANGUINE MODÉRÉE
CHEZ LE LAPIN

a.- Choix du volume sanguin à soustraire

Les données classiques (156) attribuent au Lapin un volume sanguin moyen de 65 ml par kg de poids corporel. Pour étudier chez cet animal les effets d'une saignée d'importance égale à celle qui avait été pratiquée chez l'Homme et qu'on avait évaluée à 6,6 pour 100 du volume sanguin, on doit soustraire 4,3 ml par kg de poids corporel.

b.- Expérimentation

L'expérimentation est entreprise sur 10 animaux selon le protocole général décrit plus haut; la durée d'une telle saignée est voisine de cinq minutes.

c.- Résultats

Si l'on compare la composition du sang qui s'écoule au début et à la fin de l'hémorragie, on enregistre toujours dans les derniers millilitres une diminution du nombre de cellules comptées par unité de volume, quel que soit l'élément considéré. Les résultats obtenus sont indiqués dans la première colonne du tableau N° 32.

T A B L E A U N° 32
POURCENTAGES DE DIMINUTION ± ERREUR STANDARD,
PAR RAPPORT A LA VALEUR DE DÉPART, DE DIVERS CONSTITUANTS SANGUINS,
AU COURS DE STADES PROGRESSIFS D'HÉMORRAGIES CHEZ LE LAPIN
(6,6 – 13,2 – 19,8 et 26,4 pour 100 de soustraction du volume sanguin)

Constituants sanguins étudiés	Pourcentage de soustraction du volume sanguin			
	6,6	13,2	19,8	26,4
Hémoglobine	3,0 ± 0,48	5,9 ± 0,66	9,8 ± 0,84	13,0 ± 1,10
Leucocytes totaux	22,2 ± 1,68	39,8 ± 3,07	54,1 ± 2,57	65,1 ± 1,72
Neutrophiles	19,3 ± 4,06	37,6 ± 5,63	52,5 ± 4,18	60,0 ± 4,53
Lymphocytes	21,9 ± 8,91	40,9 ± 4,22	52,7 ± 2,57	65,6 ± 1,72
Basophiles	14,6 ± 2,26	39,4 ± 4,82	63,2 ± 3,82	76,6 ± 1,75
Éosinophiles	20,2 ± 2,59	39,5 ± 3,33	57,5 ± 2,65	72,2 ± 3,29

Si l'on rapproche ces chiffres de ceux qui ont été observés chez l'Homme dans des conditions identiques, on remarque que, dans les deux espèces, la diminution du nombre des leucocytes de tous types est plus marquée que celle de l'hémoglobine.

D.- EFFETS HÉMATOLOGIQUES D'HÉMORRAGIES D'IMPORTANCE CROISSANTE

a.- Protocole expérimental

10 animaux sont soumis à des saignées d'un volume double, triple et quadruple de celui qui a été soustrait dans l'expérience précédente (des spoliations sanguines plus importantes sont très rapidement mortelles), ce qui correspond à 13,2 – 19,8 et 26,4 pour 100 du volume sanguin théorique; les deux derniers millilitres de chacun des prélèvements font l'objet des examens hématologiques habituels.

La durée totale de l'opération est d'une vingtaine de minutes.

b.- Résultats

Les résultats relatifs aux hémorragies d'importance croissante sont réunis dans le précédent tableau (N° 32).

On remarque que le pourcentage de diminution du taux d'hémoglobine est toujours beaucoup plus faible que celui du nombre des leucocytes et que, pour chacun des éléments considérés, l'amplitude des perturbations enregistrées varie dans le même sens que les volumes soustraits.

Une analyse statistique a été faite à propos de chaque soustraction sanguine, comparant deux à deux tous les éléments étudiés; les 60 résultats qu'elle comporte ne seront pas rapportés afin de ne pas alourdir l'exposé et nous n'en dégagerons que les conclusions.

Il n'existe aucune disparité statistiquement significative dans les résultats relatifs aux 4 variétés de leucocytes étudiés, tant que la soustraction sanguine est inférieure ou égale à 19,8 pour 100 de la volémie; ils se comportent donc tous de la même manière devant l'hémorragie. Mais, lorsque le volume prélevé atteint la valeur de 26,4 pour 100, la diminution du nombre des basophiles et des éosinophiles circulants est plus importante que celle des autres leucocytes; elle est statistiquement très significative pour les basophiles (P inférieur à 0,01 par confrontation avec les neutrophiles et inférieur à 0,005 par comparaison avec les lymphocytes). Par contre, pour les éosinophiles, la signification n'existe que par rapport aux neutrophiles ($P < 0,05$).

La disparité entre l'importance des diverses leucopénies et celle de la réduction du taux d'hémoglobine se retrouve à tous les stades de l'hémorragie avec un degré de signification toujours inférieur à 1 pour 1.000 : le simple examen des valeurs du tableau N° 32 accompagnées de leur erreur standard laisse d'ailleurs présumer qu'il peut difficilement en être autrement.

Une telle disparité permet d'affirmer que les perturbations hématologiques enregistrées ne sont pas le reflet d'une simple dilution sanguine; elle traduit la coexistence de plusieurs réactions organiques.

On connaît la réalité des mouvements d'eau des liquides interstitiels vers le sang circulant dans les suites immédiates d'une hémorragie mais ces mouvements interviennent-ils au cours même de la spoliation sanguine ? Certes, la diminution du taux d'hémoglobine peut suggérer la possibilité d'une hémodilution destinée à restaurer la volémie primitive mais, ou cette dilution est d'une efficacité modérée, puisque son importance est moindre que celle de la déplétion sanguine, ou elle est plus intense qu'il ne paraît, mais un apport d'hématies — dont il conviendrait de préciser l'origine — la masque partiellement.

Par ailleurs, la réduction du nombre des leucocytes est très accusée, son importance dépassant toujours celle de la soustraction sanguine; il est difficile d'admettre qu'elle traduit une hémodilution excessive qui serait hors de proportion avec le volume liquidien à restaurer; en outre, une telle dilution devrait affecter intensément la concentration en hémoglobine car on ne peut aisément concevoir qu'en un temps aussi court une libération d'hématies soit assez importante pour la dissimuler presque totalement.

Pour tenter d'apporter quelques précisions dans ce domaine, nous avons recherché s'il existait réellement une hémodilution précoce et si une hyperactivité médullaire pouvait expliquer une importante mise en circulation d'hématies.

E.- RECHERCHE D'UNE HÉMODILUTION ET D'UNE RÉPONSE MÉDULLAIRE A L'HÉMORRAGIE

Il ne semble pas possible d'apprécier la dilution sanguine en dosant les protéines totales sériques au début et à la fin de la saignée car l'albumine qui existe en faible quantité dans les liquides interstitiels peut traverser les parois vasculaires; nous avons donc choisi de faire porter notre recherche sur les globulines seules, dosées selon la technique de LOWRY (114).

Pour apprécier la reproductibilité de la méthode, nous avons effectué 10 dosages de globulines sur un mélange de sérums de Lapin. Nous avons été frappée par la modicité de la dispersion des résultats : en effet, pour une moyenne de 22,51 g par litre, l'erreur standard n'est que de 0,086. Nous avons donc pensé que ce dosage pourrait nous indiquer exactement le degré d'hémodilution.

Sur un autre plan, il convenait d'étudier également les éventuelles réactions médullaires à l'hémorragie, c'est-à-dire la libération simultanée de réticulocytes et d'hématies mûres; nous avons donc effectué des numérations de réticulocytes dans le sang circulant en cherchant, par surcroît, à apprécier leur âge.

Nous savons que ces cellules possèdent, au moment de leur départ de la moelle, un réticulum important qui disparaît progressivement en un peu plus d'une journée. Lors de pertes sanguines continues et étalées sur de longues périodes chez des individus dont la moelle osseuse réagit normalement, le sang présente une réticulocytose non seulement élevée mais faite de cellules à réticulum dense. Or, il est possible, par un examen microscopique attentif, de chiffrer l'importance de ce réticulum en définissant jusqu'à huit classes, ce qui permet de donner au nombre banal de réticulocytes circulants une signification beaucoup plus précise.

Dans l'expérience précédente, il nous est apparu capital de connaître si les réticulocytes présents dans le sang avant et à la fin de l'hémorragie étaient ou non comparables quant à l'importance de leur réticulum. Mais, cette appréciation étant très subjective, nous n'avons procédé à cette investigation qu'après avoir vérifié sa valeur sur dix frottis de sang provenant d'un même animal et ayant subi une coloration vitale.

Sur chaque lame, nous avons examiné 150 réticulocytes en les répartissant dans une des huit classes suivant l'importance de leur réticulum. Nous avons pu fixer ainsi un « index de réticulation » pour chaque frottis. Les résultats sont remarquablement homogènes : la moyenne obtenue pour l'animal considéré est égale à 3,20 avec une erreur standard de 0,026.

Ayant ainsi la certitude de la validité des résultats, nous avons procédé à l'expérimentation proprement dite.

a.- Protocole expérimental

L'hémodilution et la réponse médullaire éventuelles ont été recherchées au cours d'une expérimentation unique portant sur 10 lapins soumis à une saignée correspondant à 26,4 pour 100 du volume sanguin.

Sur chacun des prélèvements effectués selon les modalités décrites plus haut ont été réalisés les examens suivants :

- dosage d'hémoglobine,
- dosage de globulines,
- numération de leucocytes totaux,
- numération de granulocytes basophiles,
- numération de granulocytes éosinophiles,
- numération de réticulocytes,
- formule leucocytaire,
- coloration vitale destinée à l'étude cytologique des réticulocytes (« index de réticulation ») : cet index de réticulation a été déterminé sur 150 réticulocytes par lame sans connaître à l'avance l'origine du frottis.

b.- Résultats

La moyenne des index de réticulation (suivie de l'erreur standard) est la suivante :

- avant l'hémorragie : $3,39 \pm 0,152$
- à la fin de l'hémorragie : $3,38 \pm 0,202$

Les réticulocytes présents dans le sang à la fin de la soustraction sanguine ne sont pas plus jeunes que ceux qui s'y trouvaient avant : il ne peut donc s'agir de cellules récemment mises en circulation par la moelle.

Les résultats des dosages et numérations sont indiqués dans le tableau N° 33.

T A B L E A U N° 33

**POURCENTAGES DE DIMINUTION $\pm$ ERREUR STANDARD,
PAR RAPPORT A LA VALEUR DE DÉPART, DE DIVERS CONSTITUANTS SANGUINS
AU COURS D'UNE HÉMORRAGIE SOUSTRAYANT 26,4 POUR 100 DU VOLUME SANGUIN
CHEZ LE LAPIN**

Constituants sanguins étudiés	Pourcentage de diminution $\pm$ erreur standard	Constituants sanguins étudiés	Pourcentage de diminution $\pm$ erreur standard
Hémoglobine	$8,0 \pm 1,25$	Neutrophiles	$57,6 \pm 5,18$
Réticulocytes	$17,4 \pm 3,30$	Lymphocytes	$72,9 \pm 3,56$
Globulines	$18,0 \pm 1,81$	Basophiles	$71,1 \pm 3,20$
Leucocytes totaux	$67,4 \pm 4,12$	Éosinophiles	$72,4 \pm 3,59$

La concentration en globulines subit une diminution moyenne de 18 pour 100. Si l'on admet que ces protéines restent strictement intra-vasculaires, on peut conclure à la réalité d'une dilution sanguine d'égale valeur.

Le taux d'hémoglobine est l'objet d'une réduction de moindre importance : c'est donc qu'intervient une augmentation sensible du nombre des hématies circulantes, qui masque partiellement les effets de l'hémodilution.

F.- SEUIL D'APPARITION DES PERTURBATIONS

Avant d'entreprendre la discussion générale des résultats de l'expérimentation, nous avons voulu savoir si une hémorragie minime, égale à environ 1 pour 100 du volume sanguin, conduisait à des réactions organiques comparables.

Résultats :

Les résultats obtenus sont groupés dans le tableau N° 34.

T A B L E A U N° 34

**POURCENTAGES DE DIMINUTION $\pm$ ERREUR STANDARD,
PAR RAPPORT A LA VALEUR DE DÉPART, DE DIVERS CONSTITUANTS SANGUINS
AU COURS D'UNE HÉMORRAGIE SOUSTRAYANT ENVIRON 1 POUR 100 DU VOLUME SANGUIN
CHEZ LE LAPIN**

Constituants sanguins étudiés	Pourcentages de diminution $\pm$ erreur standard	Constituants sanguins étudiés	Pourcentages de diminution $\pm$ erreur standard
Hémoglobine	$-3,3 \pm 1,09^*$	Neutrophiles	$10,1 \pm 3,30$
Réticulocytes	$4,8 \pm 4,17$	Lymphocytes	$24,8 \pm 3,75$
Globulines	$3,6 \pm 1,28$	Basophiles	$12,1 \pm 2,85$
Leucocytes totaux	$18,4 \pm 3,75$	Éosinophiles	$15,4 \pm 4,00$
(*) Le signe (—), appliqué à une diminution, indique qu'il s'agit d'une augmentation .			

On observe encore une diminution de tous les éléments étudiés, sauf pour l'hémoglobine, dont la concentration s'élève légèrement.

2.- DISCUSSION GÉNÉRALE DES RÉSULTATS

En commençant cette discussion, nous rappellerons ce qui a été acquis point par point au cours des différentes étapes de l'expérimentation.

La composition du sang subit des perturbations pendant la durée d'une soustraction sanguine; les concentrations en hémoglobine, réticulocytes, leucocytes totaux, basophiles, éosinophiles, neutrophiles et lymphocytes sont plus faibles en fin de saignée qu'au début.

Ces perturbations, à l'exception de celle qui affecte l'hémoglobine, se manifestent déjà pour une spoliation sanguine correspondant à 1 pour 100 de la masse sanguine, et elles s'intensifient au fur et à mesure que le volume soustrait augmente.

Une hémodilution intervient dès le début de l'hémorragie mais elle ne compense pas les pertes liquidiennes. Les perturbations subies par les éléments figurés rouges et blancs ont des amplitudes fort différentes : elles ne reflètent donc pas fidèlement l'hémodilution.

La concentration en hémoglobine baisse moins que ne le laisse prévoir la dilution sanguine : c'est donc que les hématies sont intéressées par un phénomène précis qui s'oppose à cette dilution; il s'agit vraisemblablement d'une libération de cellules, qui tend à restaurer le volume globulaire circulant. La réalité de ce fait semble confirmée par l'étude du tableau N° 34, qui met en évidence une augmentation de la concentration en hémoglobine en réponse à une soustraction sanguine très réduite. Ce phénomène n'est pas pour nous étonner car il avait déjà été observé pour la première fois, en 1918, par RICHET et coll. (144).

D'où proviennent les globules rouges ainsi libérés ?

La comparaison des index de réticulation montre que les réticulocytes présents dans le sang à la fin de l'hémorragie ne sont pas plus jeunes que ceux qui existaient auparavant : il ne peut donc s'agir de cellules récemment mises en circulation par la moelle osseuse.

En outre, le nombre de réticulocytes sanguins n'a pas subi d'augmentation : on observe au contraire une diminution plus accusée que celle de l'hémoglobine, la différence étant statistiquement significative.

Si ces constatations ne permettent évidemment pas d'affirmer la réalité d'une réponse médullaire, elles n'autorisent pas toutefois à l'exclure. On peut en effet penser que, sollicitée par la spoliation sanguine, la moelle réagit en libérant simultanément hématies mûres et réticulocytes et que ces derniers sont par ailleurs spécifiquement séquestrés, probablement dans la rate (70), l'organisme préservant au moins ces éléments jeunes, dont l'espérance de vie est plus longue que celle des hématies prises dans leur ensemble.

Le problème de l'intervention médullaire reste donc, comme on le voit, irrésolu.

Par ailleurs, on sait que dans la rate la concentration en globules rouges est relativement importante et il est classique de parler de « chasse splénique » ou de « splénocontraction adrénalinique », mettant en circulation les éléments figurés contenus dans les sinus du tissu splénique; or, si l'hypersécrétion d'adrénaline consécutive à une hémorragie est bien un fait d'expérience (124), la splénocontraction adrénalinique a été contestée (54, 84) et si la chasse splénique est réelle chez le Chien, elle n'a jamais été démontrée de façon formelle chez l'Homme, où l'histologie plaide d'ailleurs peu en sa faveur.

Ce n'est donc pas un fait acquis que la rate soit à l'origine de l'apparente libération d'hématies observée au cours de notre expérimentation.

Peut-être faut-il en rechercher la cause dans les phénomènes vaso-moteurs secondaires à toute hémorragie. En effet, on sait que toute spoliation sanguine entraîne une riposte vaso-constrictive d'origine nerveuse et humorale qui répond aux variations, même insignifiantes, de la volémie et qui intéresse, selon l'importance de la déplétion sanguine, soit le seul territoire musculo-cutané, soit le territoire splanchnique (66, 67, 68, 104). Cette vaso-constriction a deux effets : limiter d'une part la chute de tension artérielle et réduire d'autre part le système circulatoire en mettant hors circuit certaines aires vasculaires. Or, on sait que l'écoulement laminaire dans les petits vaisseaux conduit à la formation d'une zone centrale constituée d'éléments figurés et d'un manchon périphérique plasmatique, certains capillaires pouvant être parcourus uniquement par du plasma; si l'on admet que la contraction des sphincters précapillaires isole momentanément le flux plasmatique, l'hématocrite du sang circulant se trouve augmenté, ce qui dissimule les effets de l'hémodilution; toutefois, la quantité de sang contenue dans les capillaires ne représente qu'une faible fraction de la volémie et ce phénomène ne peut expliquer à lui seul les résultats de nos observations. Il est vraisemblable que seule l'addition de plusieurs mécanismes d'efficacité individuelle insuffisante peut expliquer ce que nous avons enregistré au niveau de l'hémoglobine.

Les résultats relatifs aux leucocytes sont très comparables à ceux qui avaient été obtenus chez l'Homme et conduisent aux mêmes conclusions. Tout porte à croire que ces cellules quittent le flux circulatoire, soit pour se rendre dans les tissus, soit plus vraisemblablement pour venir augmenter la réserve leucocytaire en margination vasculaire.

Toutes les catégories de globules blancs semblent répondre de la même façon tant que la soustraction sanguine reste inférieure à 25 pour 100 de la volémie, mais au-delà de cette valeur, les éosinophiles et les basophiles se comportent un peu différemment, car leur diminution est plus importante que celle des autres leucocytes. On ignore quelle signification donner à ce phénomène; toutefois, si l'on remarque que ce chiffre de 25 pour 100 représente un point critique au-delà duquel toute soustraction sanguine risque d'être rapidement mortelle chez le Lapin, on est tenté de rapprocher cette observation de celle de JENNINGS (102) selon laquelle, chez l'Homme, une chute très importante des éosinophiles survient toujours dans les heures qui précèdent la mort.

CONCLUSIONS GENERALES

Ce travail destiné à l'étude des granulocytes basophiles et éosinophiles dans certaines circonstances physiologiques et pathologiques comporte deux parties, l'une consacrée à la mise au point de techniques d'hématologie et de biochimie (Technologie), l'autre à l'expérimentation humaine et animale (Biologie).

Les techniques proposées sont au nombre de trois :

- numération directe des granulocytes basophiles chez l'Homme,
- dosage manuel de l'iode protéique,
- évaluation semi-automatique de l'iode hormonal.

L'expérimentation porte sur l'étude des granulocytes basophiles et éosinophiles dans leurs rapports avec le cycle menstruel, la pathologie thyroïdienne humaine et animale, et certaines agressions. Elle a permis de dégager les points suivants :

1.- Aucune variation systématique des granulocytes basophiles et éosinophiles ne peut être rattachée à un moment privilégié du cycle menstruel chez la femme; les fluctuations enregistrées ne sont pas plus importantes que celles qui interviennent chez l'homme sur une période d'égale durée.

2.- Dans l'exploration de la glande thyroïde chez l'Homme, le nombre de granulocytes basophiles circulants peut être un élément complémentaire d'information mais il ne permet en aucun cas de poser ou d'infirmer un diagnostic; celui des granulocytes éosinophiles n'apporte aucun argument de valeur.

3.- La seule variation leucocytaire significative consécutive à la radiothyroïdectomie chez le Lapin est une augmentation temporaire du nombre des granulocytes basophiles circulants; celui des éosinophiles ne subit en effet aucune modification.

4.- Chez le même animal, des injections de thyroxine pratiquées selon des modalités diverses nous ont conduite à penser que si le taux des basophiles sanguins dépend pour une faible part des valeurs de l'iodémie hormonale, il pourrait surtout être soumis aux taux plasmatiques de thyrostimuline hypophysaire. Il semble par contre exister une relation plus directe entre éosinophiles et thyroxinémie.

5.- Des injections d'une préparation commerciale de T.S.H. provoquent d'importantes perturbations hématologiques mais le produit inactivé par la chaleur a les mêmes effets; on ne peut donc les relier à une activité propre de la T.S.H. mais plutôt à celle des constituants protéiques de l'extrait hypophysaire utilisé.

6.- Au cours de l'effort physique, la mobilisation des globules blancs de la réserve qui se trouve en margination vasculaire s'accompagne de modifications de l'équilibre leucocytaire antérieur : les lymphocytes et les granulocytes éosinophiles présentent en effet un

accroissement numérique beaucoup plus marqué que celui des granulocytes neutrophiles et basophiles.

7.- Les perturbations hématologiques occasionnées par une hémorragie sont très précoces : nous avons montré qu'elles interviennent au cours même de l'écoulement sanguin, dont les premières et les dernières fractions sont différentes. Ce phénomène traduit une hémodilution partiellement compensée par la mise en circulation d'hématies issues de territoires divers, mais surtout par une importante leucopénie globale, qui intéresse plus particulièrement les granulocytes basophiles et éosinophiles en cas de spoliation sanguine massive.

*
* * *

Les problèmes de physiologie et de pathologie thyroïdiennes auxquels nous sommes particulièrement attachée ne sont pas sans susciter d'autres recherches dans le domaine hématologique, notamment pour tout ce qui concerne la thyroïdostimuline hypophysaire, mais il n'apparaît pas possible de tenter une expérimentation correcte tant que nous ne disposerons pas de préparations d'une pureté suffisante.

Par contre, nous pensons que l'étude des perturbations du métabolisme cellulaire dans les dysthyroïdies peut être abordée avec fruit par des méthodes cyto-enzymologiques en s'adressant aux leucocytes sanguins, éléments libres mais qu'aucune différence essentielle ne sépare des cellules qui constituent les tissus solides de l'organisme. C'est dans ce domaine que nous pensons orienter nos recherches dans les années à venir.

*
* * *

BIBLIOGRAPHIE

- (1) — ACKERMAN (J.A.) et MYERS (J.T.)

A rapid screening method for the elimination of cross-contamination in the determination of protein - bound iodine.

Clin. Chem., 1959, **5**, 615-6.

- (2) — ALBANUS (L.) et WINQVIST (G.)

Basophils, eosinophils and histamine in the bone marrow of the guinea pig.

Acta Haemat., 1961, **26**, 365-71.

- (3) — ANDERSEN (K.L.)

Leucocyte response to brief, severe exercise.

J. Appl. Physiol., 1955, **7**, 671-4.

- (4) — ANDRÉ (R.)

Les anémies secondaires aux hémorragies.

Ann. Biol. clin., 1967, **25**, 257-66.

- (5) — ANGELI (G.), TEDESCHI (G.) et CAVAZZUTI (F.)

Il tasso dei basofili del sangue periferico nel soggetto normale, valutato con un nuovo metodo di conta derella.

Progresso Med., 1954, **10**, 742-5.

- (6) — ANGELI (G.), TEDESCHI (G.) et CAVAZZUTI (F.)

Studio sul compartimento dei basofili ematici in soggetti di età avanzata.

Acta Gerontol., 1955, **5**, 28-33.

- (7) — ARCHER (R.K.) et FELDBERG (W.)

The eosinophil leucocytes.

Blackwell Scientific Publications éd., Oxford, 1963.

- (8) — ASBOE - HANSEN (G.)

The variability of the hyaluronic acid content of the dermal connective tissue under the influence of thyroid hormone.

Acta Dermat. Venereol., 1950, **30**, 221,30.

- (9) — ASBOE - HANSEN (G.)
Hormonal effects on connective tissue.
Physiol. Rev., 1958, **38**, 446-62.
- (10) — ASBOE - HANSEN (G.) et IVERSEN (K.)
Influence of thyrotrophic hormone on connective tissue. Pathogenic significance of mucopolysaccharides in experimental exophthalmos.
Acta Endocrinol., 1951, **8**, 90-6.
- (11) — ASCHKENASY (A.)
Maladies des globules rouges et désordres endocriniens.
Sang, 1952, **23**, 89-195.
- (12) — ASCHKENASY (A.)
Effets de la thyroïdectomie, seule ou combinée à la surrénalectomie, sur les leucocytes sanguins chez le Rat.
J. de Physiol., 1956, **48**, 376-80.
- (13) — ASCHKENASY (A.)
Modifications quantitatives des éosinophiles sanguins après ablation de la thyroïde, des testicules ou des surrénales chez le Rat.
Sang, 1956, **27**, 97-116.
- (14) — ASCHKENASY (A.)
Sur le rôle joué par certains métabolites dans la production de l'éosinopénie d'agression.
C.R. Acad. Sci., 1956, **243**, 1440-2.
- (15) — ASCHKENASY (A.)
Le rôle des hormones dans la régulation de l'éosinophilie sanguine.
Sang, 1957, **28**, 400-46.
Sang, 1957, **28**, 485-527.
- (16) — ASCHKENASY (A.)
Recherches expérimentales sur le rôle de la thyroïde dans la régulation de la leucopoïèse.
Pathol. Biol., 1958, **6**, 683-97.
- (17) — ASCHKENASY (A.) et PARIENTE (P.)
Recherches sur la régulation hormonale de l'utilisation hématopoïétique des protéines.
Acta Haemat., 1953, **9**, 29-46.
- (18) — ATHENS (J.W.), HAAB (O.P.), RAAB (S.O.), MAUER (A.M.), ASHENBRUCKER (H.), CARTWRIGHT (G.E.) et WINTROBE (M.M.)
Leukokinetic studies. IV. The total blood, circulating and marginal granulocyte pools and the granulocyte turnover rate in normal subjects.
J. Clin. Invest., 1961, **40**, 989-95.

- (19) — AUCLAIR (R.F.), BONOFIGLIO (R.A.) et ROSENKRANTZ (H.)

Determination of serum thyroid hormone in laboratory animals.

Am. J. Vet. Res., 1970, **31**, 1655-60.

- (20) — AXELROD (A.R.) et BERMAN (L.)

The bone marrow in hyperthyroidism and hypothyroidism.

Blood, 1951, **6**, 436-53.

- (21) — BARCROFT (J.) et HARRIS (H.A.)

A contribution to the physiology of the spleen.

J. of Physiol., 1925, **60**, 443-56.

- (22) — BARKER (S.B.)

Determination of protein - bound iodine.

J. Biol. Chem., 1948, **173**, 715-24.

- (23) — BERENCSI (G.), KROMPECHER (ST.) et LASZLO (M.B.)

Contribution to the correlation between the thyroid gland and mucopolysaccharide household.

Acta Anat., 1964, **57**, 5-15.

- (24) — BIBILE (S.W.)

The assay of cortical steroid by the mouse eosinophil test.

J. Endocrinol., 1953, **9**, 357-69.

- (25) — BIGGART (J.H.)

Some observations on the eosinophile cell.

J. Pathol. Bact., 1932, **35**, 799-816.

- (26) — BLANQUET (P.), MEYNIEL (G.), MOUNIER (J.) et TOBIAS (C.A.)

A propos des résines échangeuses d'anions Dowex 1 et 2. Séparation immédiate de l'iode organique et de l'iode minéral. Dosage rapide des acides aminés iodés marqués au moyen de ^{131}I .

Bull. Soc. Chim. biol., 1957, **39**, 419-24.

- (27) — BLANQUET (P.), MEYNIEL (G.) et SAVOIE (J.C.)

Résines échangeuses d'ions et métabolisme thyroïdien. Déterminations quantitatives portant sur le plasma.

C.R. Acad. Sci., 1960, **250**, 217-9.

- (28) — BOGGS (D.R.)

The kinetics of neutrophilic leukocytes in health and disease.

Seminars Hemat., 1967, **4**, 359-86.

(29) — BONVALLET (M.), MOREL (E.) et BENDA (PH.)

Sur le mécanisme de la transmission à l'hypophyse des stimuli provoquant la décharge émotionnelle d'hormone corticotrope chez le Chien.

C.R. Soc. Biol., 1951, **145**, 1055-60.

(30) — BOSEILA (A.W.A.)

The basophil leucocyte.

Munksgaard éd., Copenhagen, 1959.

(31) — BOSEILA (A.W.A.)

The normal count of basophil leucocytes in human blood.

Acta Med. Scand., 1959, **163**, 525-9.

(32) — BOSEILA (A.W.A.)

Variations in the blood basophil count induced by sexual stimulation in the rabbit.

Acta Endocrinol., 1959, **30**, 477-80.

(33) — BOSEILA (A.W.A.)

Normal counts and physiological variability of rabbit blood basophils.

Experientia, 1959, **15**, 149-50.

(34) — BOSEILA (A.W.A.)

Hormones and basophil granulocytes.

Ann. N.Y. Acad. Sci., 1963, vol. 103, art. 1, 394-408.

(35) — BOSEILA (A.W.A.) et MOLTKE (E.)

Influence of L-thyroxine on the circulating basophil leucocytes in the rabbit.

Acta Endocrinol., 1958, **29**, 273-8.

(36) — BOSEILA (A.W.A.) et MOLTKE (E.)

Influence of D-thyroxine and L-thyroxine on the basophilic count in human blood.

Acta Endocrinol., 1959, **32**, 284-8.

(37) — BOWERS (C.Y.), MURISON (P.J.), GORDON (D.L.) et LOCKE (W.)

Effect of thyrotropin on the serum protein - bound iodine level in various thyroid states.

J. Clin. Endocrinol., 1961, **21**, 465-71.

(38) — BRAUNSTEINER (H.), HÖFER (R.), THUMB (N.) et VETTER (H.)

Untersuchungen über die basophilen Leukocyten bei Schilddrüsenerkrankheiten.

Klin. Wochenschr., 1959, **37**, 250-2.

(39) — BRAUNSTEINER (H.), POUTUZHEK (O.) et THUMB (N.)

Variations observées dans le nombre des leucocytes basophiles chez l'Homme. Leurs significations fonctionnelles.

Rev. Hémat., 1960, **15**, 241-9.

(40) — BRAUNSTEINER (H.) et THUMB (N.)

Quantitative Veränderungen der Blutbasophilen und ihre klinische Bedeutung.

Acta Haemat., 1958, **20**, 339-49.

(41) — BRAUNSTEINER (H.) et THUMB (N.)

Über quantitative Veränderungen der basophilen Leukozyten und ihre Stoffwechselbedeutung.

Wien. Zeitschr. inn. Med., 1958, **39**, 285-8.

(42) — BRICAIRE (H.), JOLY (J.), MATHIEU DE FOSSEY (B.), COURJARET (J.), et BAILLET (J.).

Exploration du couple hypophyso-thyroïdien à l'aide d'un dérivé de l'imidazole.

Presse Méd., 1964, **72**, 2505-10.

(43) — BROUHA (L.), GRAYBIEL (A.) et HEATH (C.W.)

The step test. A simple method of measuring physical fitness for hard muscular work in adult man.

Rev. Canad. Biol., 1943, **2**, 86-91.

(44) — BUGARD (P.), SOURAS (H.), VALADE (P.), COSTE (E.) et SALLE (J.)

Réactions hématologiques chez des animaux soumis à l'action de bruits ou d'ultrasons intenses se propageant dans l'air. Etude des leucocytes.

C.R. Soc. Biol., 1953, **147**, 1785-8.

(45) — CACHERA (R.), LAMOTTE (M.), DARNIS (F.) et RAYNAUD (J.)

Le volume des liquides extracellulaires dans l'hyperthyroïdie.

Sem. Hôp. Paris, 1949, **25**, 1659-65.

(46) — CACHERA (R.), LAMOTTE (M.), DARNIS (F.) et RAYNAUD (J.)

Action du traitement de l'hyperthyroïdie sur les liquides extracellulaires.

Sem. Hôp. Paris, 1949, **25**, 1666-72.

(47) — CALTABIANO (S.) et RICCI (P.D.)

Rapporti tra tiroide e tasso degli eosinofili nel sangue periferico. La eosinopenia da tiroxina e da ormone tireotropo.

Fol. Endocrinol., 1952, **5**, 627-48.

(48) — CAMERADA (P.) et LEO (P.)

Il tasso dei leucociti basofili nel sangue circolante di soggetti normali.

Rass. Med. Sarda, 1955, **57**, 45-9.

- (49) — CAMERADA (P.) et LEO (P.)

Modificazioni indotte dalla tiroxina sul tasso ematico dei leucociti basofili.

Rass. Med. Sarda, 1955, **57**, 163-6.

- (50) — CARLIER (B.), FAURE (H.), BUSSET (R.), JENNY (M.) et MACH (R.S.)

La composition corporelle des hyperthyroïdies (dissection isotopique simultanée de 6 cas).

Rev. fr. Et. clin. biol., 1969, **14**, 354-60.

- (51) — CAVAZZUTI (F.), TEDESCHI (G.) et ANGELI (G.)

Rapporti tra funzionalità tiroidea e leucociti basofili.

Min. Med., 1959, **50**, 2352-8.

- (52) — CAZAL (P.)

La masse sanguine et sa pathologie.

Masson éd., Paris, 1955.

- (53) — CHANNICK (B.J.), SCHNEEBERG (N.G.) et PERLOFF (W.H.)

Response of serum protein-bound iodine level to thyrotropic hormone in the diagnosis of hypothyroidism.

J. Clin. Endocrinol., 1956, **16**, 976.

- (54) — CHATTERJEA (J.B.), DAMESHEK (W.) et STEFANINI (M.)

The adrenalin (epinephrin) test as applied to hematologic disorders.

Blood, 1953, **8**, 211-35.

- (55) — CODE (C.F.) et MITCHELL (R.G.)

Histamine, eosinophils and basophils in the blood.

J. of Physiol., 1957, **136**, 449-68.

- (56) — COMSA (J.)

Influence du thymus dans l'action de la thyroxine sur l'image leucocytaire du Cobaye.

Sang, 1957, **28**, 87-91.

- (57) — COTTENOT (F.)

Recherches physiopathologiques sur le mastocyte et les mucopolysaccharides de la substance fondamentale.

Ann. Méd., 1955, **56**, 304-22.

- (58) — CRAFTS (R.C.)

The effect of endocrines on the formed elements of the blood.

I.- The effect of hypophysectomy, thyroidectomy and adrenalectomy on the blood of the adulte female rat.

Endocrinol., 1941, **29**, 596-605.

- (59) — DALTON (A.J.) et SELYE (H.)

The blood picture during the alarm reaction.

Fol. Haemat., 1939, **62**, 397-407.

- (60) — DANOWSKI (T.S.), HEDENBURG (S.) et GREENMAN (J.H.)

The constancy of the serum precipitable or protein - bound iodine in healthy adults.

J. Clin. Endocrinol., 1949, **9**, 768-73.

- (61) — DANOWSKI (T.S.), JOHNSTON (S.Y.), PRICE (W.C.), MAC KELVY (M.), STEVENSON (S.S.),
et MAC CLUSKEY (E.R.)

Protein - bound iodine in infants from birth to one year of age.

Pediatrics, 1951, **7**, 240-4.

- (62) — DAVIS (P.J.)

Factors affecting the determination of the serum protein - bound iodine.

Am. J. Med., 1966, **40**, 918-40.

- (63) — DAVIS (M.E.) et HULIT (B.E.)

Changes in circulating eosinophils in women during the menstrual cycle and reproduction.

J. Clin. Endocrinol., 1949, **9**, 714-24.

- (64) — DESPOPOULOS (A.) et PERLOFF (W.H.)

Pituitary versus primary thyroid myxedema.

Am. J. Med. Sci., 1950, **220**, 208-12.

- (65) — DOMENECH (A.), GIROD (CH.) et SLIMANE - TALEB (S.)

Action de doses fortes ou prolongées d'œstrogène sur la numération et la formule leucocytaire de la Ratte albinos castrée.

C.R. Soc. Biol., 1955, **149**, 681-3.

- (66) — DONNET (V.) et ARDISSON (J.L.)

Comportement respectif des territoires vasculaires musculo-cutané et mésentérique supérieur dans la régulation de la pression artérielle. I. Perturbations minimales de la masse sanguine.

C.R. Soc. Biol., 1956, **150**, 1408-11.

- (67) — DONNET (V.) et ARDISSON (J.L.)

Comportement respectif des territoires musculo-cutané et viscéral splanchnique : rate et rein, dans la régulation de la pression artérielle.

C.R. Soc. Biol., 1957, **151**, 140-2.

- (68) — DONNET (V.), ARDISSON (J.L.) et PRUNEYRE (A.)

Comportement respectif des territoires musculo-cutané et mésentérique supérieur dans la régulation de la pression artérielle. II. Modifications importantes de la masse sanguine.

C.R. Soc. Biol., 1956, **150**, 1582-6.

- (69) — DORFMAN (A.) et SCHILLER, in GOODWIN (T.W.) et LINDBERG (O.)
Biological structure and function, vol. I.
Academic Press éd., New York, 1961.
- (70) — DORNFEST (B.S.), HANDLER (E.S.) et HANDLER (E.E.)
Reticulocyte sequestration in spleens of normal, anaemic and leukaemic rats.
Brit. J. Haemat., 1971, **21**, 83-94.
- (71) — DWORETSKY (M.), CODE (C.F.) et HIGGINS (G.M.)
Effect of cortisone and ACTH on eosinophils and anaphylactic shock in guinea pigs.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 1950, **75**, 201-6.
- (72) — EINHORN (J.)
Studies on the effect of thyrotropic hormone on the thyroid function in man.
Acta Radiol., Suppl. 160, 1958.
- (73) — EINHORN (J.) et LARSSON (L.G.)
Studies on the effect of thyrotropin on human thyroid function.
J. Clin. Endocrinol., 1959, **19**, 28-34.
- (74) — FLEURY (P.), COURTOIS (J.E.) et LECLERC (M.)
Fiches techniques de chimie biologique. 8^e Supplément.
Véga éd., Paris, 1965.
- (75) — FLYNN (F.V.), GARCIA-WEBB-SHARP (P.), PIPER (K.A.) et TROOP (J.)
Some immediate effect of a blood donation on plasma chemistry.
Clin. Chim. Acta, 1969, **24**, 51-9.
- (76) — FORTIER (C.)
Studies on the adrenocorticotrophic effect of androgenic stimulation.
Rev. Canad. Biol., 1951, **10**, 67-8.
- (77) — FORWELL (G.D.)
The response of the leukocyte count in man to environmental heat and to exercise.
J. of Physiol., 1954, **124**, 66-7 P.
- (78) — FOURNIER (J.)
Hypothyroïdie et grossesse.
Thèse Doctorat Médecine, Paris, 1965.
- (79) — FREINKEL (N.), INGBAR (S.M.), DOWLING (J.T.) et FINE (B.R.)
The influence of extracellular thyroxine-binding protein upon the accumulation of thyroxine by tissue slices.
J. Clin. Invest., 1957, **36**, 25-37.

- (80) — FURTH (E.D.), RIVES (K.) et BECKER (D.V.)

Non thyroidal action of propylthiouracil in euthyroid, hypothyroid and hyperthyroid man.
J. Clin. Endocrinol., 1966, **26**, 239-46.

- (81) — GABRILOVE (J.L.) et LUDWIG (A.W.)

The histogenesis of myxœdema.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 1957, **17**, 925-33.

- (82) — GALTON (V.A.) et PITT - RIVERS (R.)

A quantitative method for the separation of thyroid hormones and related compounds from serum and tissues with an anion - exchange resin.
Biochem. J., 1959, **72**, 310-3.

- (83) — GENNES (L. de), BRICAIRE (H.) et GUILLON (J.)

La réponse surrénale à l'ACTH dans l'insuffisance thyroïdienne.
Presse Méd., 1955, **63**, 587-8.

- (84) — GHADIALLY (F.N.)

The effect of adrénaline on the cell content of blood and saliva of normal man.
J. Endocrinol., 1952, **8**, 138-47.

- (85) — GODLOWSKI (Z.Z.)

The action of human gamma globulin on white blood cells and on plasma proteins.
Arch. intern. Pharmacodyn., 1952, **91**, 103-11.

- (86) — GOGUEL (A.) et BONHOMME (J.)

Contrôle de la qualité de l'héogramme et modalités de prélèvement.
Pathol. Biol., 1970, **18**, 905-12.

- (87) — GORDON (A.S.), KADOW (P.C.), FINKELSTEIN (G.) et CHARIPPER (H.A.)

The thyroid and blood regeneration in the rat.
Am. J. Med. Sci., 1946, **212**, 385-94.

- (88) — GOTTLIEB (R.)

Blood studies in hyperthyroidism.
J. Lab. Clin. Med., 1934, **19**, 371-9.

- (89) — GRAF (W.) et SWENSSON (A.)

Experimental investigations on local changes in the white blood cell picture following perforating injury to blood vessels (veins).
J. Pathol. Bact., 1950, **62**, 419-27.

- (90) — GUINET (P.), PEYRIN (J.O.) et BRIERE (J.)

Contribution à l'étude du test de stimulation thyroïdienne.
I.- Utilisation de l'iode 132. II.- Effets sur l'iodémie protidique 127.
Ann. Endocrinol., 1968, **29**, 338-45.

- (91) — HARRIS (P.F.), HARRIS (R.S.) et KUGLER (J.H.)
Studies of the leucocyte compartment in guinea-pig bone marrow after acute haemorrhage and severe hypoxia : evidence for a common stem-cell.
Brit. J. Haemat., 1966, **12**, 419-32.
- (92) — HEINEMANN (M.), JOHNSON (C.E.) et MAN (E.B.)
Serum precipitable iodine concentrations during pregnancy.
J. Clin. Invest., 1948, **27**, 91-7.
- (93) — HERNBERG (C.A.) et LAMBERG (B.A.)
The number of circulating eosinophil leucocytes as an indication of the adrenal function in thyrotoxicosis.
Acta Endocrinol., 1957, **26**, 236-41.
- (94) — HOFER (R.) et THUMB (N.)
Erfahrungen über den diagnostischen Wert der Basophilenzahlung bei Schilddrüsenerkrankungen.
Blut, 1968, **16**, 342-4.
- (95) — HOLBAN (R.) et SAHLEANU (V.)
Numerical variations in circulating eosinophils after treatment with thyroxine and thyrotropic hormone.
Acad. rep. populare Romine, Inst. endocrinol. « Pr. C.I. PARHON », Studii cercetari endocrinol., 1960, **11**, 561-3 (d'après Chemical Abstracts, 1961, **55**, 5755).
- (96) — HUDSON (G.)
Discharge of marrow eosinophils following re-injection of foreign protein.
Nature, 1962, **195**, 721.
- (97) — HUDSON (G.)
Changes in the marrow reserve of eosinophils following re-exposure to foreign protein.
Br. J. Haemat., 1963, **9**, 446-55.
- (98) — INAGAKI (S.)
The relationship between the level of circulating basophil leucocytes and thyroid function.
Acta Endocrinol., 1957, **26**, 477-88.
- (99) — INAGAKI (S.)
Clinical studies on the relationship between thyroid function and level of circulating basophil leukocytes.
Blood, 1959, **14**, 196-7.
- (100) — JACKSON (A.S.)
The blood picture in 600 cases of goiter.
J. Am. Med. Assoc., 1931, **97**, 1954-6.

(101) — JAKOBSON (T.) et HORTLING (H.)

Studies on the endocrine regulation of the number of circulating eosinophil cells in the rat.
Acta Endocrinol., 1954, **15**, 265-81.

(102) — JENNINGS (P.B.)

Adrenal cortical function at death as measured by level of circulating eosinophils.
Br. Med. J., 1952 (17 mai), 1055-8.

(103) — JOSEY (A.I.) et LAWRENCE (J.S.)

Studies on physiology of eosinophil; the effect of starvation and exposure to cold on white blood cells of the guinea pig.
Fol. Haemat., 1932, **48**, 303-12.

(104) — JOURDAN (F.) et FAUCON (G.)

Réactions vasomotrices comparées des circulations viscérale et périphérique aux variations tensionnelles.
C.R. Soc. Biol., 1959, **153**, 124-7.

(105) — KARAM (J.), THOMOPOULOS (P.), MASSIN (J.P.), SAVOIE (J.C.) et PIETTE (C.)

Dosage de la thyroxinémie : comparaison de l'analyse par compétition avec la méthode chimique.
Ann. Biol. clin., sous presse.

(106) — KONTAXIS (N.E.) et PICKERING (D.E.)

A micromethod for the determination of butyl alcohol-extractable hormonal iodine in serum.
J. Clin. Endocrinol., 1958, **18**, 774-86.

(107) — KOUNTZ (W.B.), CHIEFFI (M.) et KIRK (E.)

Serum protein - bound iodine and age.
J. Gerontol., 1949, **4**, 132-5.

(108) — KRESBACH (E.) et RABEL (CH.)

Zur Regulation der eosinophilen Leukozyten.
Wien. klin. Wochenschr., 1954, **66**, 295-8.

(109) — KROMPECHER (ST.), HADHASY (C.S.), BERENCSI (G.), OLAH (E.H.) et LASZLO (M.B.)

Experimental data concerning the connexion between thyroid function and mucopolysaccharide (Hexosamine) — level.
Nature, 1961, **189**, 670-1.

(110) — LABENDZINSKI (F.)

Recherches quantitatives sur les basophiles du sang périphérique au moyen de la goutte épaisse.
Sang, 1956, **27**, 432-7.

(111) — LABIGNETTE (P.)

Variations de la formule sanguine après l'effort physique.
Concours méd., 1959, **81**, 4395-6.

(112) — LEPRAT (J.)

Désordres sanguins et troubles endocriniens. Revue critique des acquisitions physiologiques, cliniques et thérapeutiques.
Sang, 1959, **30**, 54-97 et 941-70.

(113) — LINQUETTE (M.), SWINGEDAUF (J.), FOSSATI (P.), MAY (J.P.) et GASNAULT (J.P.)

Appréciation des réserves en thyroïdostimuline par le test au néomercazole.
Ann. Endocrinol., 1963, **24**, 1008-14.

(114) — LOWRY (O.H.), ROSEBROUGH (N.J.), FARR (A.L.) et RANDALL (R.J.)

Protein measurement with the Folin phenol reagent.
J. Biol. Chem., 1951, **193**, 265-75.

(115) — MAC CULLAGH (E.) et DUNLAP (E.)

The blood picture in hyperthyroidism and hypothyroidism.
J. Lab. Clin. Med., 1931, **17**, 1060-70.

(116) — MAN (E.B.)

A note about iodine - containing contrast media and the interference of teridax for cholangiograms in evaluation of thyroid function by measurement of serum iodine.
Am. J. Roentgenol., 1960, **83**, 497-500.

(117) — MAN (E.B.), PICKERING (D.E.), WALKER (J.) et COOKE (R.E.)

Butanol-extractible iodine in the serum of infants.
Pediatrics, 1952, **9**, 32-7.

(118) — MANDEL (P.), METAIS (P.) et VOEGTLIN (R.)

Effets de l'ablation de l'hypophyse, du corps thyroïde, des glandes génitales et des surrénales sur les acides nucléiques de la moelle osseuse.
C.R. Soc. Biol., 1953, **147**, 1282-5.

(119) — MEYNIEL (G.), BLANQUET (P.), MOUNIER (J.) et ESTIBOTTE (M.)

Sur la séparation qualitative et quantitative des acides aminés iodés thyroïdiens par chromatographie sur résine échangeuse d'ions (Dowex).
Bull. Soc. Chim. biol., 1958, **40**, 369-77.

(120) — MIALE (J.B.)

Laboratory medicine hematology, 2^e édition.
The C.V. Mosby Company éd., Saint-Louis, 1962.

(121) – MITCHELL (R.G.)

Circulating basophilic leucocyte counts in the newborn.
Arch. Dis. Childh., 1955, **30**, 130-2.

(122) – MITCHELL (R.G.)

Basophilic leucocytes in children in health and disease.
Arch. Dis. Childh., 1958, **33**, 193-201.

(123) – MOLTKE (E.) et LORENZEN (I.)

Effect of thyroidectomy and thyroxine on the mucopolysaccharides of wounds and skin.
Acta Endocrinol., 1960, **34**, 407-10.

(124) – MOORE (F.D.)

The effects of hemorrhage on body composition.
New Engl. J. Med., 1965, **273**, 567-77.

(125) – MOORE (J.E.) et JAMES (G.W.)

A simple direct method for absolute basophil leucocyte count.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 1953, **82**, 601-3.

(126) – MORLEY (A.A.)

A neutrophilic cycle in healthy individuals.
Lancet, 1966, **2**, 1220-2.

(127) – MURPHY (B.E.) et PATTEE (C.J.)

Determination of thyroxine utilizing the property of protein-binding.
J. Clin. Endocrinol., 1964, **24**, 187-96.

(128) – NICOLOFF (J.T.) et DOWLING (J.T.)

Estimation of thyroxine distribution in man.
J. Clin. Invest., 1968, **47**, 26-37.

(129) – PATHAK (C.L.) et KAHALI (B.S.)

Cyclic variations in eosinophil count during phases of the menstrual cycle.
J. Clin. Endocrinol., 1957, **17**, 862-9.

(130) – PEPPER (H.) et LINDSAY (S.)

Levels of eosinophils, platelets, leukocytes and 17 - hydroxycorticosteroids during normal menstrual cycle.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 1960, **104**, 145-7.

(131) — PERLMUTTER (M.) et RIGGS (D.S.)

Thyroid collection of radioactive iodide and serum protein-bound iodine concentration in senescence, in hypothyroidism and in hypopituitarism.

J. Clin. Endocrinol., 1949, **9**, 430-9.

(132) — PICKERING (D.E.), KONTAXIS (N.E.), BENSON (R.C.) et MEECHAN (R.J.)

Thyroid function in the perinatal period.

Am. J. Dis. Childh., 1958, **95**, 616-21.

(133) — PIETTE (C.)

Contribution à l'étude du granulocyte basophile.

Thèse Doctorat Pharmacie (Univ.), Paris, 1964.

(134) — PIETTE (C.) et PIETTE (M.)

Dosage de l'iode protéique du sérum.

Ann. Biol. clin., 1960, **18**, 438-44.

(135) — PIETTE (M.)

Numération directe en cellule hématimétrique des réticulocytes du sang circulant.

Sang, 1960, **31**, 265-72.

(136) — PIETTE (M.)

Numération directe des granulocytes éosinophiles après coloration par le Noir Chlorazol E.

Ann. Biol. clin., 1961, **19**, 729-34.

(137) — PIETTE (M.) et CHICHE (P.)

Différenciation des granulocytes éosinophiles et pseudo-éosinophiles (amphophiles) du sang du Lapin. Technique de numération directe des éosinophiles.

Pathol. Biol., 1962, **10**, 1511-4.

(138) — PIETTE (M.) et LAJOINIE (C.)

Problèmes pratiques posés par la numération directe des granulocytes basophiles du sang chez le Lapin.

Pathol. Biol., 1962, **10**, 1331-4.

(139) — PIETTE (M.) et PIETTE (C.)

Etude sur les granulocytes basophiles du sang circulant.

I.- Méthode directe de numération chez le Lapin.

Ann. pharm. fr., 1959, **17**, 124-35.

(140) — PIETTE (M.) et PIETTE (C.)

Etude critique des méthodes de numération directe des granulocytes basophiles dans le sang humain : proposition d'une technique.

Ann. Biol. clin., 1962, **20**, 197-205.

- (141) — PILEGGI (V.J.), LEE (N.D.), GOLUB (O.J.) et HENRY (R.J.)

Determination of iodine compounds in serum.

I.- Serum thyroxine in the presence of some iodine contaminants.

J. Clin. Endocrinol., 1961, **21**, 1272-9.

- (142) — PINNA PINTOR (P.) et GRASSINI (V.)

Individual and seasonal spontaneous variations of haematological values in normal male rabbits.
Statistical survey.

Acta Haemat., 1957, **17**, 122-8.

- (143) — POTUZHEK (O.), THUMB (N.), BRAITENBERG (H.) et BRAUNSTEINER (H.)

Quantitative Veränderungen der Blutbasophilen durch Schwangerschaft, Zyklus und Sexualhormone.

Wien. klin. Wochenschr., 1959, **32**, 595-8.

- (144) — RICHET (C.), BRODIN (P.) et SAINT-GIRONS (F.)

De la densité du sang après les grandes hémorragies.

C.R. Acad. Sci., 1918, **166**, 587-93.

- (145) — ROBBINS (J.) et RALL (J.E.)

Interaction of thyroid hormones and protein in biological fluids.

Recent Progr. Hormone Res., 1957, **13**, 161-202.

- (146) — ROCHE (J.), MICHEL (R.), NUSSENZWEIG (R.S.) et VOLPERT (E.)

Sur la prédominance de glycuconjugués dans l'urine de Lapin après injection de l'acide
3 : 5 : 3' - triiodothyroacétique et de la 3 : 5 : 3' - triiodo - L - thyronine.

C.R. Soc. Biol., 1960, **154**, 77-80.

- (147) — ROCHE (J.), MICHEL (R.), NUSSENZWEIG (R.S.) et MELDOLESI (M.F.)

Sur le métabolisme de la 3 : 5 - diiodo - L - tyrosine chez le Lapin.

C.R. Soc. Biol., 1960, **154**, 1144-8.

- (148) — ROCHE (J.), MICHEL (R.), NUSSENZWEIG (R.S.) et MELDOLESI (M.F.)

Sur le métabolisme de la L-thyroxine et l'excrétion urinaire de ses produits chez le Lapin.

C.R. Soc. Biol., 1960, **154**, 1732-6.

- (149) — RORSMAN (H.)

Normal variation in the count of circulating basophil leucocytes in man.

Acta Allergol., 1962, **17**, 49-65.

- (150) — ROSSINGTON (D.)

Formule sanguine automatisée : Hemalog « D » et Hemalog.

Symposium Technicon (Hématologie), Paris, 12 février 1971.

- (151) — ROUGIER (G.) et BABIN (J.P.)

Influence des activités physiques sur les électrolytes sériques et musculaires.
Pathol. Biol., 1969, **17**, 411-27.

- (152) — RUBINO (G.F.)

Il compartimento degli eosinofili circolante nell' uomo normale in diverse condizioni fisiologiche.
Min. Med., 1951, **2**, 268-70.

- (153) — SAMTER (M.)

The response of eosinophils in the guinea pig to sensibilization, anaphylaxis and various drugs.
Blood, 1949, **4**, 217-46.

- (154) — SANDELL (E.) et KOLTHOFF (J.)

Microdetermination of iodine by a catalytic method.
Mikrochim. Acta, 1937, **1**, 9-25.

- (155) — SCHALM (O.W.)

Veterinary hematology, 2^e édition.
Lea et Febiger éd., Philadelphie, 1965.

- (156) — SCHERMER (S.)

The blood morphology of laboratory animals, 3^e édition.
F.A. Davis Company éd., Philadelphie, 1967.

- (157) — SCHILLER (S.), SLOVER (G.A.) et DORFMAN (A.)

Effect of the thyroid gland on metabolism of acid mucopolysaccharides in skin.
Biochim. Biophysic. Acta, 1962, **58**, 27-33.

- (158) — SCHWEIZER (M.)

A study of the sex difference in the number of circulating eosinophils in the guinea pig.
Endocrinology, 1955, **56**, 693-8.

- (159) — SHARPE (J.C.) et BISGARD (J.D.)

The relation of the thyroid gland to hematopoiesis.
I.- Experimental total thyroidectomy in the rabbit.
J. Lab. Clin. Med., 1936, **21**, 347-53.

- (160) — SHIBATA (A.), SAITO (S.), OSARI (K.) et KOBAYASHI (K.)

Studies on the dynamics of basophil leucocyte. III. Influence of thyroxine analogues on the number of human basophils and thyroid functions.
Nisshin Igaku, 1962, **49**, 47-52.

- (161) — SHREWSBURY (M.M. Jr.) et REINHARDT (W.O.)

Relationships of adrenals, gonads and thyroid to thymus and lymph nodes and to blood and thoracic duct leucocytes.

Blood, 1955, 10, 633-45.

- (162) — SIMMS (E.), PFEIFFENBERGER (M.) et HEINBECKER (P.)

Neuroendocrine and endocrine influences on the circulating blood elements.

Endocrinology, 1951, 49, 45-66.

- (163) — STARR (P.), PETIT (D.W.), CHANEY (A.L.), ROLLMAN (H.), AIKEN (J.B.), JAMIESON (B.) et KLING (I.)

Clinical experience with the blood protein - bound iodine determination as a routine procedure.

J. Clin. Endocrinol., 1950, 10, 1237-50.

- (164) — STEINBERG (B.) et MARTIN (R.A.)

Hematopoietic responses to provocatives.

Arch. Pathol., 1954, 57, 227-43.

- (165) — STUDER (H.) et WYSS (F.)

Eine Methode zum Nachweis der hypophysären T.S.H. Reserve.

Schweizer. Medizin. Wochenschr., 1961, 50, 1536-9.

- (166) — STURGIS (C.C.) et BETHELL (F.H.)

Quantitative and qualitative variations in normal leukocytes.

Physiol. Rev., 1943, 23, 279-303.

- (167) — TEDESCHI (G.), CAVAZZUTI (F.) et ANGELI (G.)

Variazioni quantitative dei granulociti basofili del sangue periferico in diverse condizioni patologiche.

Min. Med., 1959, 50, 1535-43.

- (168) — THONNARD - NEUMANN (E.)

Basophile Leukozyten und Steroidhormone.

Medizinische, 1958, 27-28, 1087-90.

- (169) — THONNARD - NEUMANN (E.)

The influence of hormones on the basophilic leukocytes.

Acta Haemat., 1961, 25, 261-70.

- (170) — THONNARD - NEUMANN (E.)

Studies of basophils. Variations with age and sex.

Acta Haemat., 1963, 5, 221-8.

- (171) — VALLENT (K.), MUNDI (B.) et PERNER (F.)
Über die Wirkung der Thyroidektomie sowie der Thyreotrophormon und Thyroxinbehandlung auf den Serumheparingehalt und auf die Leukocyten — und Eosinophilenzahl.
Endokrinologie, 1966, **50**, 57-66.
- (172) — VILLALOBOS (T.J.), ADELSON (E.) et BAULA (T.G.)
Hematological changes in hypothermic dogs.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 1955, **89**, 192-6.
- (173) — WATSON (E.M.) et PEARCE (R.H.)
The cutaneous mucopolysaccharides in localized (pretibial) myxedema.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 1950, **52**, 1004-5.
- (174) — WAYNE (E.), KOUTRAS (D.) et ALEXANDER (W.)
Clinical aspects of iodine metabolism.
Blackwell Scientific Publications éd., Oxford, 1964.
- (175) — WEGELIUS (O.) et ASBOE - HANSEN (G.)
Hormonal effects on mast cells. Studies on living connective tissue in the hamster cheek pouch.
Acta Endocrinol., 1956, **22**, 157-65.
- (176) — WHITBY (L.E.H.) et BRITTON (C.J.C.)
Disorders of the blood, 9^e édition.
Churchill éd., Londres, 1963.
- (177) — WILBER (J.F.) et ODELL (W.D.)
Influence of tapazole upon serum TSH.
J. Clin. Endocrinol., 1965, **25**, 1407-8.
- (178) — WINQWIST (G.)
Experimental production of basophil granulocytes in the guinea pig.
Exp. Cell. Res., 1960, **19**, 7-12.
- (179) — WINTROBE (M.M.)
Clinical hematology, 6^e édition
Lea et Febiger éd., Philadelphie, 1967.
- (180) — WISSCHER (M. DE), NAYER (P. DE) et SCHRIECK (H.G. VAN DEN)
Anomalies génétiques ou acquises des protéines de transport des hormones thyroïdiennes, in
« Métabolisme périphérique et transport humoral des hormones thyroïdiennes et stéroïdes ».
Doin et Masson éd., Paris, 1969.
- (181) — ZACHARIAE (F.), ASBOE - HANSEN (G.) et BOSEILA (A.W.A.)
Studies on the mechanism of ovulation. Migration of basophil leucocytes from blood to genital organs at ovulation in the rabbit.
Acta Endocrinol., 1958, **28**, 547-52.

TABLE DES MATIERES

	Pages
INTRODUCTION	1
 PREMIERE PARTIE : TECHNOLOGIE	
CHAPITRE I — Techniques hématologiques utilisées	4
1.- Numération des leucocytes totaux et formule leucocytaire	4
2.- Numération directe des granulocytes basophiles dans le sang humain	4
3.- Numération directe des granulocytes basophiles sanguins chez le Lapin	11
4.- Numération directe des granulocytes éosinophiles dans le sang humain	11
5.- Numération directe des granulocytes éosinophiles sanguins chez le Lapin	12
6.- Numération des réticulocytes	13
 CHAPITRE II — Techniques biochimiques utilisées	 14
1.- Dosage de l'iode protéique sérique	14
2.- Dosage de l'iode sérique total par voie automatique	19
3.- Dosage de l'iode hormonal sérique	24
4.- Dosage des globulines sériques	29
4.- Dosage de l'hémoglobine dans le sang	29
 DEUXIEME PARTIE : BIOLOGIE	
CHAPITRE III — Granulocytes basophiles et éosinophiles sanguins chez la femme normale au cours du cycle menstruel et chez l'homme normal au cours de périodes de durée identique	31
1.- Raisons de l'étude	31
2.- Travaux antérieurs	31
3.- Recherches personnelles	32
4.- Discussion des résultats	33
 CHAPITRE IV — Corrélations entre l'iode hormonal sérique et le nombre des granulocytes basophiles et éosinophiles sanguins	 42
1.- Travaux antérieurs	42
2.- Recherches personnelles	42
3.- Résultats	44

	Pages
CHAPITRE V — Modifications hématologiques consécutives à la radiothyroïdectomie chez le Lapin	52
1.- Travaux antérieurs	52
2.- Raisons de l'étude	52
3.- Recherches personnelles	53
4.- Discussion des résultats	55
CHAPITRE VI — Effets hématologiques de l'administration de thyroxine chez le Lapin	56
1.- Travaux antérieurs	56
2.- Raisons de l'étude	57
3.- Recherches personnelles	57
4.- Discussion des résultats	61
CHAPITRE VII — Effets hématologiques de l'administration de thyroestimuline hypophysaire chez le Lapin	63
1.- Raisons de l'étude	63
2.- Travaux antérieurs	63
3.- Recherches personnelles	64
4.- Discussion générale des résultats	71
CHAPITRE VIII — Modifications leucocytaires consécutives à un effort musculaire bref et intense chez l'Homme	72
1.- Travaux antérieurs	72
2.- Recherches personnelles	72
3.- Discussion des résultats	79
CHAPITRE IX — Modifications hématologiques au cours d'une soustraction sanguine modérée chez l'Homme normal	81
1.- Travaux antérieurs et raisons de l'étude	81
2.- Recherches personnelles	81
3.- Discussion des résultats	82
CHAPITRE X — Modifications hématologiques au cours d'hémorragies importantes et aiguës chez le Lapin	83
1.- Recherches personnelles	83
2.- Discussion générale des résultats	89
CONCLUSIONS GÉNÉRALES	91
BIBLIOGRAPHIE	93

Impressions SIRCO-FRANCE
20, rue du Bourg-Tibourg, 20
P A R I S - 4^e
